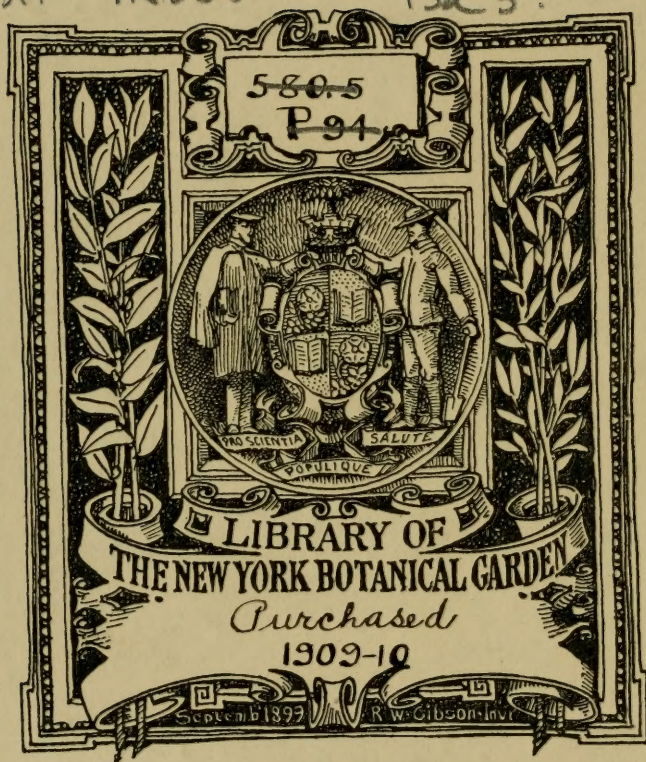


SHOUT **IT**
SHARE



XP .R858

1323.



PROGRESSUS REI BOTANICAE

FORTSCHRITTE DER BOTANIK
PROGRÈS DE LA BOTANIQUE
PROGRESS OF BOTANY

HERAUSGEGEBEN

VON DER

ASSOCIATION INTERNATIONALE DES BOTANISTES

REDIGIERT VON

DR. J. P. LOTSY

DRITTER BAND

MIT 13 ABBILDUNGEN IM TEXT



LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1910

XIP
R858
Bd 3

~~~~~  
Alle Rechte vorbehalten.  
~~~~~

Inhaltsverzeichnis.

Erstes Heft.

	Seite
Henry H. Dixon, Transpiration and the Ascent of Sap	1
E. Zacharias, Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern .	67

Zweites Heft.

C. Fruwirth, Die Entwicklung der Auslesevorgänge bei den landwirtschaftlichen Kulturpflanzen	259
J. Christian Bay, Bibliographies of Botany	331

Drittes Heft.

M. Wheldale, Plant oxydases and the chemical interrelationships of colour-varieties	457
J. Pavillard, Etat actuel de la Protistologie végétale.	474

PROGRESSUS REI BOTANICAE

FORTSCHRITTE DER BOTANIK
PROGRÈS DE LA BOTANIQUE
PROGRESS OF BOTANY

HERAUSGEGEBEN

VON DER

ASSOCIATION INTERNATIONALE DES BOTANISTES

REDIGIERT VON

DR. J. P. LOTSY

DRITTER BAND ◉ ERSTES HEFT

MIT 7 ABBILDUNGEN



JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1909

	Seite
HENRY H. DIXON. Transpiration and the Ascent of Sap. Mit 7 Figuren	1
E. ZACHARIAS. Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern	67

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

Sobald erschienen:

CARL VON LINNÉ'S

Bedeutung als Naturforscher und Arzt.

Schilderungen

herausgegeben von der

Königl. schwedischen Akademie der Wissenschaften
anlässlich der
200jährigen Wiederkehr des Geburtstages Linné's.

Preis: 20 Mark, geb. 21 Mark 50 Pf.

Hieraus einzeln:

Carl von Linné
als
Botanischer Forscher und Schriftsteller

VON
C. A. M. Lindman.

Preis: 6 Mark.

Carl von Linné
als
Entomolog

VON
Chr. Aurlvillius.

Preis: 1 Mark 80 Pf.

Carl von Linné
als
Geolog

VON
A. G. Nathorst.
Mit 2 Tafeln u. 10 Textfiguren.
Preis: 4 Mark 50 Pf.

Carl von Linné
als
Mineralog

VON
Hj. Sjögren.
Preis: 1 Mark 80 Pf.

Autogamie bei Protisten

und ihre
Bedeutung für das Befruchtungsproblem.

Von
Dr. Max Hartmann,
Privatdozent an der Universität Berlin.

Mit 27-Abbildungen im Text. Preis: 2 Mark 50 Pf.

Transpiration and the Ascent of Sap.

By

Henry H. Dixon, Sc.D., F.R.S.

Prof. of Botany in the University of Dublin.

The water of the transpiration stream enters at the roots, passes up the stem and is given off from the leaves. It will be convenient to discuss the processes taking place in each of these organs separately so far as they effect the stream and then consider how these processes are correlated.

In regard to the exhalation of water vapour from the leaves early experimenters have shown that cuticular transpiration is usually insignificant compared with diastomatic diffusion. The efficiency of diastomatic transpiration was first clearly explained by Brown and Escombe.¹⁾

The minute cross-sections of the openings of stomata and the comparatively large area occupied by the practically impermeable cuticle made it difficult to understand how the observed quantities of water escape from the leaf. These authors showed, however, that an unexpected law governs the diffusion of water vapour through a number of minute perforations in an impermeable membrane. According to this law it follows that the amount which diffuses through the perforations is not only, as one would on first thoughts expect, proportional to the sum of their areas, but may vastly exceed this proportionality; and, consequently, the diffusion through a number of minute pores, like the stomata, will be much greater than through one large aperture having a cross-section equal to the sum of the areas of the stomata.

¹⁾ Brown and Escombe, Static Diffusion of Gases and Liquids in Relation to the Assimilation of Carbon and Translocation in Plants. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B., Vol. 193, pp. 223—292, 1900, of which an abstract appeared in the Proc. Roy. Soc., Vol. 66 and in Ann. of Bot., Vol. XIV, Sept. 1900, pp. 537—542.

In order to obtain a clearer idea of this remarkable result we will consider in a general way the state of affairs round one stoma so far as water vapour is concerned. At the level of the stoma the water vapour has a certain density, i. e. the water molecules are more or less crowded, depending on the state of saturation of the external space and the amount of water vapour in the stomatal chamber. At some distance outside the stoma the crowding depends solely on the state of saturation of the outside space. When the density outside is less than that at the level of the stoma there will be a gradient of density established extending outwards from the stoma depending on the drift of water molecules from the more crowded level at the stoma to the less dense vapour outside. If we consider a point (*a*, Fig. 1) immediately over the middle of the stoma the water vapour there will have a certain density intermediate between that of the outside space and that in the stoma. All over the middle

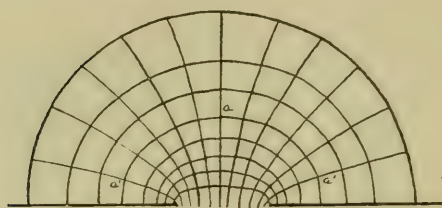


Fig. 1. Diagram to illustrate the gradients of the density of water vapour round a stoma.

of the stoma places of the same density of water vapour will be approximately equally removed from the stoma, since these places lie in the general drift of water molecules from the stoma outwards. Towards the margin of the opening however conditions are different. The molecules, jostling against each other as they

issue from the stoma, tend to travel laterally as well as straight out from the stoma, so that the crowding at the margin is less intense than over the middle; hence a place (*a'*) having the same density as (*a*) will be closer to the stoma. By connecting up the points of the same density or crowding we get a curve like *a' a a'* which represents the section of a layer (or shell) of equal density arching over the stoma. In the same way at a distance somewhat more removed from the stoma, there will be a layer of less density, and this layer will be at a greater distance from the middle of the stoma than it is from its margin. So we may imagine a series of layers or shells of diminishing density overarching each transpiring stoma such as are represented in section in Fig. 1. Of course, in reality, the higher density within grades insensibly into the lower density outside; this gradient of density, or crowding of the water molecules, is steeper near the margin than over the middle of the stoma. From this it follows that the flow of molecules outwards is less obstructed on the margins. Consequently greater numbers escape there. In other words the margin is more efficient in transmitting water vapour than the middle region of the stoma.

As the size of an aperture is reduced the relation of its margin to its area is increased; for the value of $2\pi r$ does not decrease as fast as πr^2 when r is reduced. So, for a very small aperture like a stoma, the marginal diffusion is very large compared to that over its cross-section and hence the diffusion from a stoma is exceptionally efficient.

These conditions of marginal diffusion which we have considered as obtaining on the outside of the stoma must also occur within the intercellular space on the inside, perhaps even to an increased extent since the evaporating cell-surfaces approach the margins of the stomata more closely as a rule than the middle regions.

It will be readily seen that in order to maintain the efficiency of the marginal diffusion on the outside, it is necessary that the diffusion streams from adjoining stomata should not interfere with one another. This necessitates a certain interval between the openings. Brown and Escombe found that a membrane of 1 sq. cm area perforated with 100 holes 0.38 mm diam. and 1 mm apart transmitted by diffusion under identical conditions as much vapour as an open tube of the same cross section, although the total area of the holes was only 11.34 % of the cross section of the tube. When the distance between these holes is increased their efficiency in diffusion rapidly increases: thus, according to these authors, holes of the same diameter 6 mm apart on a membrane 1 sq. cm in size transmitted $\frac{1}{5}$ as much as the open tube, while the total transmitting area was reduced by the interposition of the membrane to 0.3 % of the whole cross-section. Figures like these will enable us to form some idea of the efficiency of a leaf. Brown and Escombe¹⁾, taking as an example a leaf of *Helianthus* in which the average area of the stomatal opening is 908×10^{-7} sq. mm (= a circle 0.0107 mm diameter) and the spacing of the apertures 8 to 10 diameters, and allowing for the resistance of the stomatal tube (which leads through the epidermis), found that the amount of diffusion from a square metre could be as much as 1730 ccs of water per hour, when the state of saturation of the surrounding space was $\frac{1}{4}$ of that of the spaces within the leaf. The greatest amount of transpiration observed in the same time was 276 ccs. This clearly shows that it is not the resistance offered by the stomata to diffusion which puts the limit on transpiration in still air.

While the covering of the evaporating surfaces in the leaf by the perforated cuticle, owing to the facts just pointed out, does not limit transpiration in a still atmosphere, it acts as a most beneficial check to excessive evaporation when the leaves are exposed to wind. It is readily seen that a constant stream of air over an evaporating

¹⁾ Brown and Escombe, loc. cit. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., p. 279.

surface establishes a steepness of gradient of vapour pressure depending on the rapidity of the motion; for it constantly sweeps before it the air crowded with water-molecules escaping from the surface and replaces it with air in which they are less densely distributed. The rate of evaporation will depend on this gradient, and consequently evaporation from an open surface is liable to be almost indefinitely increased under the action of a strong wind. The same wind blowing across a surface protected with a perforated covering like the cuticularized epidermis of plants will cause a much smaller increase in evaporation.¹⁾ It is able directly to disturb only the gradient of density of water vapour on the outside of the epidermis; while the layers of equal density within the stomata are only displaced somewhat by the reduction of vapour pressure at the opening. Thus, quite apart from the closing of the stomata, which is often occasioned by the excessive loss of water, the possession of a perforated covering is of advantage to plants in controlling, though not harmfully limiting, evaporation.

The considerations just stated show that the stomata when open provide ample means for the exit of water vapour from the intercellular spaces of the leaves. We will now proceed to inquire into the physical conditions under which the water vapour enters these spaces.

As long as the spaces are not saturated there will be a flux of water molecules from the adjoining moist surfaces into the spaces, since the vapour pressure of the water imbibed by the cell-membranes of the mesophyll cells there exceeds the vapour pressure in the adjoining intercellular spaces. How is this loss made good? On first thoughts, it might appear impossible for pure water to pass easily from the cells which possess a considerable osmotic pressure within their more or less perfect semipermeable membranes, and we know experimentally it is not possible to extract water from them by osmosis unless the pressure of their solutions is balanced by an equal external osmotic pressure. This balancing pressure may amount to several atmospheres.²⁾ While this is true in the case of abstracting water from the cell so as to diminish its total water content, quite a small difference of pressure will cause water to move across the cell when it is distended to its maximum with water. The osmotic pressure of

¹⁾ Brown and Escombe, On the Physiological Processes of Green Leaves. Proc. Roy. Soc. B., Vol. 76, 1905, p. 79.

²⁾ H. H. Dixon, Rôle of Osmosis in Transpiration. Proc. Roy. Irish Acad., Ser. 3 Vol. III, 1896, p. 774, and Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2 p. 42; Idem, A Transpiration Model. Proc. Roy. Dub. Soc., Vol. X, N. S., 1903, p. 119, and Notes from the Botanical School, Trin. Coll. Dub., No. 6 p. 222.

the cell then acts simply as a force pushing the protoplasmic lining against its walls, while the water on one side of the cell is free to move across to the other side except for the resistance it experiences in passing through the cell-walls and protoplasm. In the present instance this force is the difference of vapour pressure existing on the inner and the outer, or evaporating, side of the mesophyll-cell. It might happen that this difference would be sufficient to almost keep the wall on the evaporating side flooded with water, and then evaporation into the intercellular space would take place as if from a free liquid surface; or, if evaporation proceeded more rapidly, the liquid surface might retreat into the substance of the evaporating wall. Then the capillary or imbibitional properties of the wall would exert a force drawing the water through the cell and bringing it to the surface of evaporation. The retreat of the water surface would proceed till the capillary forces so produced could bring forward water as fast as it evaporated from the surface, and a steady state were arrived at.

According to this point of view the submicroscopic spaces occupied by the imbibed water in the cell-walls are regarded as intensely minute capillary passages. When water is lost, the surface of that which remains behind retreats in the form of innumerable menisci into these spaces. The capillary forces intensify as these menisci increase the sharpness of their curvature, and may attain an extremely high value owing to the fineness of the texture of the cellulose. The contraction of cellulose on drying, involving the reduction of these passages, enhances this effect so that the capillary traction drawing the water from the cell within may become enormous.

If the supply coming into the cells were small compared with the evaporation, it might be that the steady state would not be attained until the capillary forces, bringing water forward as it evaporated, had actually reduced the volume of water in the cell and consequently reduced its turgor. Under these conditions we would have the capillary forces of the outer cell-wall pitted against the osmotic solutions in the cell itself, and, if exerting a superior force, drawing water into and across the cell, now somewhat diminished in size and containing a more concentrated solution; but, all the same, the flow across the cell is determined by the difference of vapour pressure on its opposite sides.

As the pressure conditions obtaining in the transpiring organs at and near the evaporating surfaces have given rise to some obscurity, we may devote a little space to their closer consideration. In the simplest case a cell evaporating into an intercellular space abuts directly at its inner side on a trachea filled with water. The conditions may be illustrated by the model figured (Fig. 2). It con-

sists of a glass thistle-funnel. The tube of the funnel is continued at right angles by a capillary glass tube which may be laid across the stage of a microscope, and dips into a vessel of supply. The opening of the funnel is closed with two membranes of vegetable parchment, between which is introduced some sugar. The membranes are fixed in position by binding them down on glue. When set the glue is rendered insoluble by an application of a solution of tannin. The tube is filled with water and set upright as illustrated in Fig. 2.

The osmotic pressure of the sugar as it goes into solution above the lower membrane, by creating a region of low pressure for aqueous vapour, quickly draws water into the space between the membranes.

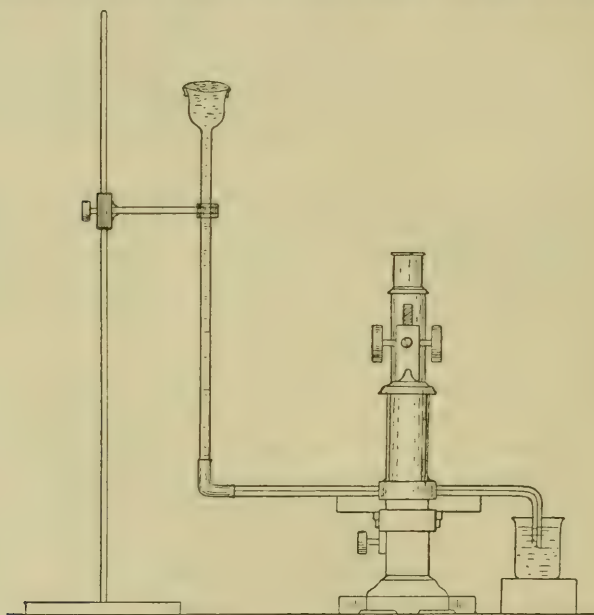


Fig. 2. Model to illustrate transpiration from an osmotic cell.

As the water enters, the dissolved sugar is free to exert its diffusion pressure against the membranes, and they are forced apart and distended. The membranes and the space enclosed by them represent a cell of the leaf in a state of turgor. The bowl of the thistle funnel corresponds to an adjoining trachea filled with water.

Supposing then that the vapour-pressure of the water in the imbibed upper membrane is greater than the pressure of aqueous vapour in the surrounding space, water will pass off. This loss will be made good to the membrane, if the vapour pressure of the solvent in the 'cell' is greater than that in the membrane. In the same way to maintain the water content of the cell there must be a greater

pressure of water vapour in the funnel than in the cell. There will be then a continuous fall in the pressures of aqueous vapour as we pass from the funnel to the cell, from the cell to the membrane and from the membrane to the surrounding space. This pressure gradient will, of course, lead to a flow of water across the cell, which may be observed in the stream of water in the capillary tube marked by the passage of suspended particles across the field of the microscope.

The amount of water passing off will depend on the difference between the vapour-pressure (q_1) at the water-surface in the membrane and the vapour pressure (q) in the surrounding space. When ($q_1 - q$) is large, evaporation is great, when ($q_1 - q$) is small, evaporation will be insignificant. The supply to make good this loss depends upon the difference of vapour pressure q_2 in the cell and q_1 ; and again the flow into the cell is dependent on the difference between the vapour pressure q_3 in the funnel and q_2 .

Supposing ($q_1 - q$) is much greater than ($q_2 - q_1$) then the membrane will lose more water than it receives and the water-surface will retreat into it, until the capillary forces developed in the membrane diminish q_1 so far that the flow due to the difference ($q_2 - q_1$) will equal that produced by ($q_1 - q$). If again the flow due to the difference ($q_2 - q_1$) is greater than that produced by ($q_3 - q_2$) the loss of water will be greater than the supply and the cell will tend to collapse. The converse will lead to a distension of the cell. It is obvious that all the actions tend to produce a steady state. As we have seen, reduction of water in the membrane diminishes the vapour-pressure in it by the development of steeper curvature in its menisci¹⁾, and reduction of water in the cell concentrates the solution and consequently lowers its vapour pressure. Both actions favour an influx of water to the impoverished region and, conversely, also oppose a loss. It is to be noticed that the water-vapour pressure q_2 in the cell depends not only on the concentration of the solution but also on the cell's state of turgor. When completely distended part of the osmotic pressure of the dissolved substances is borne by the stressed cell wall and the vapour pressure of the solvent is increased above that corresponding to the concentration by the amount of this stress.

Thus we see that the gradient necessary to the flow of water across the evaporating cells may be maintained within wide limits irrespective of the osmotic pressure in the cell; but, if the cell is to remain turgid, the flow determined by ($q_3 - q_2$) must be as great as, or greater than, that determined by ($q_2 - q_1$). Furthermore, during

¹⁾ Cf. Lord Kelvin. Proc. Roy. Soc. Edin. 1870. H. H. Dixon, On the Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 19.

turgor the forces drawing water into the cell must be at least as great as those tending in the opposite direction towards the tracheae, and in this way the osmotic pressure of the cells gives a major limit to the stress in the water in the leaf-tracheae.

It will appear later that the osmotic pressures of the evaporating cells are sometimes very large being in fact as much as 30 atm. Hence it becomes of interest to ascertain how far the strength of the cell-walls is adapted to bear the possible stresses arising from these pressures.

The actual tenacity of cell-walls has been determined by various investigators. Schwendener¹⁾ found that sclerenchymatous fibres could support from 15—25 kilo per sq. mm before breaking, Weinzierl²⁾ estimated the tenacity of the fibrous cells in the leaves of *Phormium tenax* at 20·33 kilo per sq. mm and those of *Allium porro* at 14·71 kilo per sq. mm. Ambronn³⁾ gives the breaking strain for the walls of collenchymatous cells at 8—12 kilo per sq. mm.

More recently the author⁴⁾ estimated the tenacity of cellulose by loading very gradually a single fibre, detached from the seed of *Gossypium*, until it broke. By observing the breaking weight and the area of the cross-section where the break occurred the tenacity was obtained.

Different fibres gave tenacities of 37 kilo to 60 kilo per sq. mm. The cell-walls of these fibres is of pure cellulose, and having been taken from fresh seeds and soaked in water, were in the imbibed condition, and consequently resembled in their properties the imbibed cellulose walls of the mesophyll cells. As in no case can the fibre support a stress greater than its tenacity we must regard the lower results as due to flaws in the fibres and the highest figures as giving the actual tenacity of cellulose.

The cells of the leaf approximate in form more or less to cylinders; they are seldom, if ever, spheres. Therefore the stress in the cellulose wall will never exceed the internal pressure P acting over an area πr^2 divided by the sectional area of the cell wall $2\pi r t$, where t is the thickness of the wall.

$$\text{Stress per sq. mm of cellulose} = \frac{P \pi r^2}{2 \pi r t}.$$

In *Cytisus Laburnum* for, example, the palisade cells are approximately 0·06 mm long, 0·0175 mm in diameter, and their cell walls are

¹⁾ S. Schwendener, Das mechanische Prinzip im Bau der Monocotylen. 1874.

²⁾ Weinzierl, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 1877, Bd. 76 Abt. I p. 411.

³⁾ Ambronn, Sitzungsber. d. Bot. Vereins f. Brandenburg 1880, Bd. 22 p. 48.

⁴⁾ H. H. Dixon, The Tensile Strength of Cell-Walls. Ann. of Bot., Vol. XI, 1897 and Idem, Physics of the Transpiration Current. Notes from Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 30.

0.001 mm thick. The osmotic pressure may rise to 30 atm. or about 300 grs per sq. mm.

$$\text{Stress} = \frac{300 \times 0.0087}{2 \times 0.001} = 1305 \text{ grs per sq. mm.}$$

The breaking stress of cellulose is over 50,000 grs per sq. mm. Consequently an osmotic pressure of 30 atm. even if entirely borne by the cell wall will not tax the wall to near its limit.

Probably the greatest value for the diameter of any of the cylindrical cells of the leaves is under 0.05 mm, but even in cells having this diameter and having a thickness of wall equal to 0.001 mm only, it would require a pressure of 100 atm. to tax the cell wall to its breaking point. Consequently we may take it that the osmotic pressures of the leaves never seriously tax the tensile strength of the cell walls.

With regard to the energy available in the leaf for doing work in the vaporization of water we are again indebted to the beautiful researches of Brown and Escombe¹⁾ for figures.

By use of a Callendar radiometer it was found that the maximum amount of energy incident on leaves of plants in Kew in full sunshine amounted to 1.0–0.5 calories per sq. cm per min. This is a low figure owing to the low position of Kew and the absorptive action of the attenuated veil of smoke lying over it. The coefficient of absorption of the leaves experimented with averaged about 0.7, consequently each sq. cm might absorb 0.5×0.7 cal. per min. of radiant energy. Of this it was found about 0.25 cal. might be required for the vaporization of the water given off (allowing 42×10^{-5} grs to be transpired per sq. cm per min.), while less than 1% or 0.0035 cal. was used in photosynthesis, leaving over roughly 0.0965 cal. which go to raise the temperature of the leaf above its surroundings. (Allowing for the 'emissivity' of the leaf in a breeze of about 25.7 kil. per hour, this temperature rise will be about 0.8° C.)

When the temperature is high and the sunshine is veiled the vaporization taking place lowers the temperature so that a relatively large amount of energy must enter the leaf from its surroundings. In an experiment on a leaf of *Helianthus annuus* under such conditions Brown and Escombe found: —

Total radiation falling on leaf per sq. cm per min.	0.2746 cal.
" " absorbed by leaf " " " " "	0.1884 "
Energy expended in Photosynthesis	0.0033 "
" " " Vaporization	0.3668 "

¹⁾ Brown and Escombe, On the Physiological Processes of Green Leaves. Proc. Roy. Soc. Lond. B., Vol. 76. 1905.

Therefore 0.1817 cal. must be derived from the surroundings. In this case it was found that the leaf was 1.84° C. below its surroundings.

In these experiments the energy needed for the vaporization is supposed to be the latent heat of vaporization of a free liquid surface at the temperature prevailing. It is evident that if this energy is used in doing the work of drawing up the water vaporized, as well as in evaporating it, less water will be given off. We will return to this point later.

The transpiring cells of the leaf either are directly in contact with the tracheae of the vascular bundles, as in the case of the sheath cells, or groups of them abut on these latter. In any case the water in the evaporating cells is directly or indirectly connected with that in the tracheae. According to all observers the tracheae of the leaves are normally filled completely with water and no bubbles either of air or of water vapour are to be found in them during transpiration. There is then a constant supply of water in the tracheae from which the losses of evaporation may be made good, if a higher water vapour pressure exists in the tracheae than in the membranes of the evaporating cells. With regard to the disposition of the tracheae among the other elements of the leaf and their structure, it is to be noted that they form together a continuous system throughout the blade and petiole, which, while uninjured, is uninterrupted by the interposition of cells, but trachea meets trachea in longitudinal series, so that water will pass from the base of the petiole to any one of the extreme terminations traversing tracheae alone, and need not at any place pass through living cells.

The most vexed problem of the Ascent of Sap is how the water rises in the stem to fill the tracheae of the leaves.

Botanists have sought solutions of this problem in two directions, viz. (1) In the energy transformations taking place in the living parts of the stem, namely in the cells of the wood and of the medullary rays, acting to raise the water, and (2) In the energy transmitted and applied by means of the physical properties of the conducting tracts and of the water stream itself, not necessarily involving any special vital activity on the part of the cells of the stem. Those hypotheses which belong to the first category may be distinguished as the Vital and those of the second as the Physical Theories of the Ascent of Sap.

Vital Theories.

Godlewski¹⁾ in 1884 formulated a view which won many supporters, and which, with modifications, still seems to appeal to many. He assumed a periodic change in the permeability of the osmotic membranes of the parenchymatous cells contained within the wood in order to bring about a pumping action which would account for the raising of water in the tracheae of the stem. Thus, supposing a cell of a medullary ray in contact with 8 tracheae — 4 on each side — to draw water into itself and to increase its turgor so that its protoplasmic membrane is considerably stretched, and assuming the osmotic pressure of the cell and the resistance to filtration of the membrane opposite to one trachea to be periodically and suddenly diminished owing to a chemical change, then it is evident that the contractility of the protoplasm will cause water to escape through the most permeable spot of the membrane, viz. into the trachea opposite to which filtration is most easy. Once in the trachea Godlewski assumed it to move upwards until it was drawn into a medullary ray cell lying at a higher level in the stem. The reason given for the motion upwards in the trachea rather than downwards in obedience to the gravitational force, is because the air pressure in the tracheae above is less than in those at lower levels. For this difference of pressure in the air bubbles in the stem Godlewski relies on Hartig's results.²⁾ Hartig had indeed previously shown that the percentage of air in the higher parts of stems is less than that in the lower. Godlewski claimed for his hypothesis that it explained the relations of the tracheae to the parenchymatous tissues, the radial position of the bordered pits, which facilitates a staircase motion of the water upwards in the stem, and the radial intercellular spaces along the medullary rays, which afford the aeration necessary for the respiratory liberation of energy in these cells.

Janse³⁾ supported Godlewski in a general way and was one of the first to point out that, if the lower part of a branch be killed, the leaves above fade as a rule within a few days. This result is obtained even when the branch remains attached to its supporting

¹⁾ E. Godlewski, Zur Theorie der Wasserbewegung in den Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., 15, 1884, p. 569 et seq.

²⁾ R. Hartig, Ueber die Vertheilung der organischen Substanz, des Wassers und Luftraumes in den Bäumen, und über die Ursache der Wasserbewegung in transpirirenden Pflanzen. Untersuchungen aus d. Forst. Bot. Inst. zu München. II und III. 1882—1883.

³⁾ J. M. Janse, Die Mitwirkung der Markstrahlen bei der Wasserbewegung im Holz. Jahrb. f. Wiss. Bot., 18. 1887.

stem. Janse, at first, assumed that this wilting is due to the interference with the vital sap-raising functions of the wood parenchyma and the consequent failure in the water supply. He also conceived that the pumping action of the medullary-rays is polarized, water being regularly absorbed on one side and expelled on the other.

Westermaier¹⁾, who stated his views about the same time as Godlewski, also maintained the water-raising function of the cells in the wood. But, while Godlewski believed the major part of the motion to take place in the tracheal tubes, Westermaier considered the upward passage to be effected in the wood parenchyma, while the vessels and tracheids acted as water reservoirs rather than as conducting pipes. Godlewski contrasts his view and Westermaier's by stating that he holds the wood parenchyma cells to correspond to the piston and the tracheae to the tube of a pump, while the latter holds that the cells act as tube and piston and the tracheae are the reservoirs. Furthermore Westermaier assumes that the water is held by capillarity in the tracheae in the form of short columns of water alternating with columns of air.

It is evident that Godlewski and Westermaier saw the difficulty of assuming that the water once set free from the cells would move upwards rather than downwards. Godlewski supposed that the difference in air pressure above and below decided its movement. Westermaier believed it is held by capillary forces in the tracheae at the level to which it is raised by the cells.

According to the first assumption, however, we are reduced to the theory that the whole upward motion is due to a difference of air pressure above and below. Inasmuch as this difference is never so great as one atmosphere, a rise of more than 10·3 m cannot be accounted for.

Neither could Westermaier's hypothesis be followed, inasmuch as it was known that the major part of the motion of water upwards takes place in the tracheae and not in the living cells which, as a matter of fact, offer a great resistance to the passage of water. It was also rendered invalid owing to the fact that water is free to stream past the bubbles and that they do not offer support for the water in the wood but only increased resistance to its downward motion. This was made evident by the 'drop experiment' ascribed to Sachs and Hartig, and also by Schwendener's²⁾ observation, that the bleeding sap does not carry the bubbles with it from the

¹⁾ M. Westermaier, Zur Kenntniss der osmotischen Leistungen des lebenden Parenchyms. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 1, 1883. Die Bedeutung tochter Röhren und lebender Zellen für Wasserbewegung. Sitzb. Preuss. Akad. d. Wiss., 48. 1884.

²⁾ S. Schwendener, Zur Kritik der neuesten Untersuchungen über das Saftsteigen. Sitzber. d. Preuss. Akad. d. Wiss., 44. 1892.

tracheae. Westermaier's hypothesis also, as has been often pointed out, is quite inapplicable to Conifers, for in their wood there is no vertical connection of cells placing the medullary rays of various levels in communication with one another.

One of the most remarkable features in the discussion of the Problem of the Ascent of Sap is that long before these Vital Hypotheses were conceived they had received decisive experimental refutation. Boucherie¹⁾ in 1840, while experimenting on methods of injecting timber for various technical ends, found that if a tree were cut across at the base and supplied with a poisonous fluid, it not only drew this fluid up to its highest leaves, but afterwards would draw up a second solution when the latter was supplied.

It is strange how the bearing of Boucherie's experiments appears to have completely escaped the notice of Botanists, and it may be noted that Biot²⁾, when commenting on Boucherie's work, seems to find no special interest in it in connexion with the problem of the elevation of the water of the transpiration current, but occupies himself with other questions. Boucherie's experiments did not wait long for confirmation. A few years afterwards J. Schultz³⁾ injected trees in the same manner, but his results were also overlooked by Botanists.

It appears however to have remained for Strasburger to point out the full significance of these experiments and to confirm them with many more of his own, carried out with all possible precautions.

Godlewski, it will be remembered, held the view that the function of the radial intercellular passages is to supply air to the radial medullary ray cells, and to thus enable them by respiration to utilize their energetic substances in raising the sap. Strasburger⁴⁾ tested this hypothesis by coating a branch of *Wistaria sinensis* 14 meters long for a length of 12.5 m with grafting wax. By this means gaseous exchanges between the medullary ray cells and the outer air must have been practically completely suspended. Yet during 6 days of observation no marked change in the leaves above appeared. At the end of this time the branch was cut across at its

¹⁾ Rapport sur une mémoire de M. le docteur Boucherie relatif à la conservation des Bois. Compt. Rend., 11, 1840, pp. 894 et seq.

²⁾ J. B. Biot, Remarques scientifiques à l'occasion de la lettre de M. Boucherie insérée au dernier numéro du Compte rendu. Compt. Rend., 12, 1841, pp. 357 et seq.

³⁾ J. A. Schultz, Neues, wohlfeiles und bewährtes Verfahren, das Holz zu conserviren, dasselbe auch gegen Fäulniss, Schwamm und Wurmstich zu schützen etc. Weimar 1844. Quoted by E. Strasburger in Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, p. 624.

⁴⁾ E. Strasburger, Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, p. 609.

base and was supplied with an eosin solution, which in 24 hours rose to the highest leaves.

In this experiment the respiration of the medullary ray cells must have been greatly reduced, yet the transpiration stream was not noticeably interfered with. Hence the assumed function of the radial passages and that of the medullary ray cells becomes most improbable.

Strasburger¹⁾ records the following experiments in which stems over 10 m in height, cut across at the base and supplied with poisonous fluids drew these fluids to considerable heights.

Name	Fluid	Time	Height attained
<i>Wistaria sinensis</i>	Eosin-Alcohol	64 hrs	6 m
" "	Eosin-Alcohol Copper sulphate	16 "	12 "
" "	10 % Copper sulphate	60 "	15 "
" "	10 % " "	20 "	11 "
" "	36 % " "	20 "	12 "
" "	3 % Phenol with Eosin	36 "	10.5 "
<i>Robinia Pseudacacia</i>	Eosin-Alcohol	38 "	11.5 "
" "	" "	22 "	13 "
<i>Hedera Helix</i>	" "	10 1/2 days	10.5 "
" "	" "	10 "	14 "
" "	" "	3 "	10.5 "
<i>Populus dilatata</i>	5 % Copper sulphate	3 "	14.3 "
<i>Acer platanoides</i>	15 % " "	21 "	over 15 "
" "	5 % " "	14 "	19 "
" "	5 % " "	17 "	12 "
<i>Fagus silvatica</i>	10 % " "	16 "	20 " (about)
<i>Picea vulgaris</i>	5 % " "	57 "	14 "
<i>Pinus Laricio</i>	5 % " "	Winter months	14.42 m

Strasburger does not fail to point out that the living elements of the wood traversed can have had nothing to do with the elevation of the fluid in the later stages of these experiments, but that some physical process must account for its rise. Consequently we must give up the hypotheses which regard the vital properties of the wood-cells as indispensable to the rise of water in plants.

Schwendener²⁾ criticised this standpoint and suggested that in Strasburger's experiment the living cells exerted their forces on the upper diluted surface of the poisonous stream, and stated that

¹⁾ E. Strasburger, loc. cit., pp. 611 et seq.

²⁾ S. Schwendener, Zur Kritik der neuesten Untersuchungen über das Saftsteigen. Sitzb. d. Akad. d. Wiss. z. Berlin. 1892.

this latter might rise by the mere suction of these cells to a height of 15 m in the form of a Jamin's chain.

Strasburger¹⁾ in reply followed up and confirmed his experiments by one on an oak nearly 22 m high. It was sawn obliquely across at its base and then set upright in water, where it remained half an hour. During this time its surface was cleaned and smoothed with a sharp knife and then set in a saturated solution of picric acid. The tree drew up the picric acid for 3 days. On the 4th day, when the picric acid was found at a height of 15 m and the appearance of the topmost leaves had markedly changed, fuchsin was added to the picric acid supply. After running 8 days and 16 hours the experiment was stopped and the tree investigated. The highest branch was completely impregnated with the picric acid which had consequently been drawn up to the height of 21·8 m over the surface of the supply. Also he found at this level patches coloured with fuchsin showing that the solution of fuchsin had been taken up into the wood although preceded by the picric acid by 3 days. This conclusive experiment demonstrated that watery solutions can rise in trees, without the assistance of the living cells in the regions traversed, to heights far above those to which atmospheric pressure and the capillary forces of the tracheal tubes could raise them. In passing it may be pointed out that, inasmuch as the bubbles cannot move past the partitions dividing up the conducting tracts into vessels and tracheids, a moving water-column, at any rate, must be regarded as continuous round the bubbles and as exerting its full hydrostatic pressure. Consequently it is quite illegitimate to assume that normal atmospheric pressure could raise water in plants in the form of a Jamin's chain above 10·33 m.

Strasburger²⁾ further demonstrated the needlessness of the vital hypotheses by experiments in which stems over 10·5 m long in a vertical position continued to draw up water after they had been completely killed by exposure to a temperature of 90° C. A summary of these important experiments will be of interest and is given on p. 16.

From these results it is abundantly proved that water can rise, and has in these experiments risen, without the assistance of the living cells of the stem, and, if forces exerted by these cells do intervene in raising the water in living plants, they are accessory to, and can only assist the purely physical forces in play which are able to perform the task unassisted.

¹⁾ E. Strasburger, Ueber das Saftsteigen. Jena 1893, pp. 10 et seq.

²⁾ E. Strasburger, Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, pp. 645 et seq.

Name	Length of Stem	Length killed	Height attained	Duration of Expt.
1. <i>Wistaria</i>	15 m	10.5 m	5.5 m	5 days
2. "	13 "	10.5 "	8.5 "	5 "
3. "	15 "	12 "	10.8 "	5 "
4. <i>Hedera</i> (3)	12-14 "	10.5 "	5 "	14 "
5. <i>Bryonia</i>	10.6 "	9.5 "	8 "	2 "
6. <i>Cucurbita</i>	12.25 "	10.5 "	9.5 "	10 "
7. "	12.1 "	10.5 "	10.2 "	10 "
8. <i>Humulus</i>	11.5 "	7 "	10.3 "	2 "
9. "	11.8 "	7 "	10.5 "	2 "
10. "	12.2 "	10.5 "	9.4 "	3 "

The very structure of the conducting wood of trees, far from supporting Godlewski's contention that the cells assist in elevating the transpiration stream, offers the strongest evidence against it. These cells, placed as they are beside the transmitting tubes, can by their pumping actions in no way exert a lifting force on the stream. The water, as experiment shows, is free to move downwards as well as upwards. Nor would a polarized or unidirectional action of these cells, as hypothecated by Janse¹⁾ help owing to their relation to the tubes. In that case these cells would regularly draw in water on one side and expel it on the other into tubes where it is exposed both to downward forces and to resistance to upward motion. In fact to utilize the pumping action of living cells in raising the transpiration current would require that the continuity of the conducting tracts should be here and there completely interrupted by the pumping cells; but if flow be possible in permeable tissues round these groups of cells, pumping actions on the part of the cells will be futile in assisting to raise water. As is well known no such interpolation of cells cutting the continuity of the woody tissues is revealed by the most careful study of the conducting tracts. The structure of the conducting tissues is, therefore, fatal alike to the earlier views of Godlewski and Westermaier, and to the less precise form under which they have been recently resuscitated by Ursprung.

The adhesion of writers to the vital hypothesis since Strasburger's results were published is so remarkable that we must devote some space to examine fully the grounds for their contention.

When a considerable length of a branch, still attached to an uninjured plant, is killed by surrounding it with steam or hot water,

¹⁾ J. M. Janse, Die Mitwirkung der Markstrahlen bei der Wasserbewegung im Holz. Jahrb. f. Wiss. Bot., 18. 1887.

it is found that the leaves above the killed portion sooner or later fade and wither. The vitalists' interpretation of this observation is that, when the vital actions of the wood parenchyma and medullary-ray-cells are removed, the supply of water to the leaves above is so reduced that they fade and dry from want of water. It is significant that the discoverers of the phenomenon saw in it no support of the vital hypothesis. Weber¹⁾ recognises that the reduction of the water supply may be attributed to the stoppage of the tracheal tubes. Janse²⁾ although supporting Godlewski's vital theory, quickly saw that this observation, being traceable to the blocking of the supply tubes, could not be quoted in support of the vital hypothesis. Finally Vesque³⁾ sees no support in it for the vital theory. Ursprung⁴⁾, however, the most recent champion of the vital hypothesis relies on the observation with great confidence to support his view, but even his observations show that, out of some twenty species in which the phenomenon was observed, in fourteen stoppages in the conducting tubes were actually observed after heating — usually above the heated region. Ursprung, in spite of this, maintains that the reduction in the water supply is not caused by stoppage because (1) the leaves may begin to die before the stoppage of the tubes is observed; (2) even when stoppages do occur fading may be postponed; (3) fading does not occur when a piece of the wood is removed from an uninjured branch corresponding in size to the plugged portion of the heated branch.

It is to be noted that the failure to observe microscopically these stoppages does not negative their existence. A transparent material might form quite an effective plug in the tubes or render the transmitting pits almost impermeable, while it might be almost or quite invisible. Such a transparent substance Weber⁵⁾ did actually detect in his experiments on *Picea excelsa*. This investigator's observation, that the resistance of the region immediately above the killed

¹⁾ C. A. Weber, Ueber den Einfluss höherer Temperaturen auf die Fähigkeit des Holzes den Transpirationsstrom zu leiten. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 3, pp. 345—371. 1885.

²⁾ J. M. Janse, Die Mitwirkung der Markstrahlen bei der Wasserbewegung im Holz. Jahrb. f. Wiss. Bot. 1887.

³⁾ J. Vesque, Sur le prétendu rôle des tissus vivants du bois dans l'ascension de la sève. Comptes rendus, 101, 2, 1885, p. 757.

⁴⁾ A. Ursprung, Die Beteiligung lebender Zellen am Saftsteigen. Jahrb. f. wiss. Botanik, XLII, 1906, p. 522, cf. Idem, Ueber die Wasserversorgung der Pflanzen. Biol. Centralbl., XXVII, 1907, Idem, Untersuchungen über die Beteiligung lebender Zellen am Saftsteigen. Beih. z. Bot. Centralbl., 1904, Idem, Ueber die Ursache des Welkens. Beih. z. Bot. Centralbl., 1907, und Idem, Abtötungs- und Ringelungsversuche an einigen Holzpflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., XLIV. 1907.

⁵⁾ C. A. Weber, loc. cit.

part is enormously increased, is a piece of positive evidence in favour of stoppage which cannot be put aside. He found that the lower part (11.8 cm long) of the heated stem, including both boundaries between the dead and the living regions, refused to transmit water under a head of 62 cm of mercury. Microscopic observation shows that clogging is greatest in these border regions. The permeability of the upper parts of the same stem was much greater, as was seen from the fact that the upper 16.5 cms supporting the faded leaves transmitted sufficient water under a head of 59 cm of water to render the leaves turgescient once more. In several other experiments Weber has shown that the resistance of the conducting wood is enormously increased where the uninjured part borders on the heated region. Janse¹⁾ confirmed and extended Weber's observations of this increase of resistance even when the temperature to which the branch was exposed was as low as 60°—64° C.

It is easy to show that the water traversing a piece of stem killed with heat is contaminated in its passage.

Thus if distilled water is forced through a piece of a stem freshly cut from a tree, it is transmitted without sensible colouration as long as morbid changes in the stem do not take place. But if the same stem is surrounded with steam so that its cells are killed, the water which emerges is no longer colourless, but is tinged, more or less deeply, with brown.²⁾ When attached to the tree the killed piece must contaminate the rising transpiration stream in the same way. The record of this contamination first appears in the walls of the tracheae of the leaves which become stained, then in their lumina which become filled with the coloured fluid concentrated by evaporation. This substance is finally caught in the walls of the conducting tubes of the stem and forms plugs filling their lumina immediately above the killed region. Even without Weber and Janse's direct determinations it would be hard to believe that the deposit of this coloured substance in the walls and lumina of the tubes could be without effect on their efficiency in transmitting water.

From what has been said it will appear that even in those cases where no visible stoppage has been found we have ample reason to suspect its presence. Furthermore in many cases, both where the gum-like clogging material has been observed and where it has not been found, the bordering living cells develop tyloses and so more or less completely stop the flow of water in the tracheae.

¹⁾ J. M. Janse, *Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 18. 1887.

²⁾ H. H. Dixon, *Vitality and the Transmission of Water through the Stems of Plants*. *Proc. Roy. Dubl. Soc.*, XII, 3, 1909, and *Notes from the Botanical School of Trinity College, Dublin*, Vol. II, 1. 1909.

The occurrence of tyloses has been recorded in a large number of cases.

Thus the fading and drying of the leaves above the killed region gives no support to the idea, that the lack of water from which the leaves suffer is due to the removal of vital forces which are required to raise the water-supply, but it rather indicates a great increase of resistance of the stem, due in part to the stoppage of the lumina and to the clogging of the walls of the transmitting tracheae. Janse's and Ursprung's observation, that the greater the length of the killed portion the more rapid the fading, is quite explicable on this view, as it is natural that a greater amount of the clogging material would be set free by the larger number of killed cells.

It also seems probable that some of the materials liberated by the killed cells act deleteriously on the cells in the leaf and bring about morbid changes in them so that in many cases these cells actually lose their turgor and die even before they suffer severely from the reduction in their water supply. Then it actually sometimes appears, as Vesque puts it, that the leaves dry because they die. The author has succeeded in showing the effect of these hurtful substances even on leaves whose normal water supply is not diminished. To carry out this observation¹⁾ one proceeds as follows: One arm of a forked branch, after being stripped of its leaves and deprived of its apex, while still attached to the tree is surrounded with steam or immersed in hot water. Its cut distal end is then supplied with clean water. Transpiration from the leaves of the other arm is thus supplied with water coming from the main stem and also with water passing back through the killed fork. The leaves on the living arm usually soon show appearances resembling the early stages of fading occurring on branches which are supplied solely through a killed stem. In these cases, although the water supply has been actually increased, fading has supervened from the poisoning of the additional supply passing through the killed wood. This (viz., poisoning) is another cause to account for the fading of the leaves without supposing that it is the loss of vitality of the stem which reduces their supply.

In another form the vital hypothesis has been lately supported by Ewart.²⁾ Adopting Janse's method of determining the resistance opposed to the transpiration current, Ewart obtained results which indicate that, in order to move water in stems of plants at the

¹⁾ H. H. Dixon, Note on the Supply of Water to Leaves on a dead Branch. Proc. Roy. Dubl. Soc., 1905, pp. 7 et seq.

²⁾ A. J. Ewart, The Ascent of Water in Trees. Phil. Trans. of Roy. Soc. London, Ser. B Vol. 198 pp. 41—85. 1905.

velocity of the transpiration current, pressures equivalent to a head of 6 to 33 times the height of the plant are required. To overcome this resistance, which in the case of the highest trees would amount to 50—100 atm., Ewart feels constrained to fall back on the vital activities of the wood parenchyma. He supposes them to lend a helping hand in some way and to overcome the resistance of the stem all along its length. Fully realizing the absurdity of the earlier views which suppose the cells of the wood to exert a propulsive force on the rising stream, Ewart¹⁾ proceeds to devise ingenious suggestions whereby the alteration of surface tension in the water surrounding the bubbles may lead to a kind of peristaltic passage of the water, or to the bodily transference of the intervening water columns upwards in the stem. According to one suggestion substances are supposed to be exuded by the cells into the tracheae which cause a local change in the surface tension of the film enclosing a bubble. An annular bulge on the bubble is supposed to ensue, which progressive exudation chases up along the bubble, driving with it the film of water between the bubble and the tracheal wall. Another suggestion is that the water columns of the Jamin's chains in the wood are moved bodily upwards under a difference of surface tension at their upper and under surfaces. According to Ewart this difference may be accounted for by supposing that the cells exude a substance into the wall of the conducting tube at the level of the lower surface of the column which prevents the wall from being thoroughly wetted by water. The consequence is that a convex meniscus is formed below while the concave one remains above. Under the action of the two the water column is urged upwards. As another alternative Ewart suggests that the living cells may maintain a difference of concentration at the two ends of each column and so keep up a constant difference of surface tension under which the column will move upwards.

With regard to the first suggestion; even if it were granted that the living cells round a tube actually secrete substances which would change the surface tension of water, it may be doubted if a bulge such as Ewart postulates could be formed, as the part of the film possessing the lowest surface tension would be instantaneously spread out over the whole film. Further, it is hard to see how diffusion from the cells could secure such a local action as is necessary. The second hypothesis is scarcely more happy. If such a substance as is postulated were introduced on the inner surface of a tube containing a Jamin's chain it is evident that it would depress the

¹⁾ A. J. Ewart, *loc. cit.* and *The Ascent of Water in Trees* (Second Paper). *Phil. Trans. of Roy. Soc. Lond., Series B* Vol. 199 pp. 341—392. 1908.

water column below as much as it would raise that above it, and such a substance once introduced would render the tube unavailable for the rise of other columns until it were completely removed. The removal of an unwettable substance would be attended with difficulties; for we could not assume the exudation of an emulsifying substance into the tracheae, as this, when once diffused into the columns, would nullify the whole action. His third suggestion also is open to the objection, that the increased surface tension drawing up one column will drag down the one above, and a diminished tension will lower one if it allows another to rise.

These hypotheses are put forward only in a tentative way by their author and indeed they are beset by so many physical difficulties that no one could think that any one of them actually represents the state of affairs in the conducting tracts. Nevertheless they are of importance as emphasising the fact that up to the present it has been impossible to show how 'pumping actions' in the cells adjoining the tracheal tubes can assist in elevating the water in the tracheae.

Not only has it been found impossible up to the present to devise a scheme whereby the cells of the stem should exert a propulsive action on the water in the tracheal tubes, but also experiment has totally failed to give indications of such a force. Ewart¹⁾ sought to demonstrate it by using a long piece of *Wistaria* stem connecting two vessels of water, but in no case did he obtain unequivocal evidence of the existence of a pumping action in the stem. The author also carefully compared the downward rate of transmission of water in a branch before and after death, but in no case was the resistance to downward movement reduced by the killing of the stem. The methods used would detect²⁾ a comparatively small force if such existed, and it is to be noted that the forces which Ewart's estimates of resistance necessitate would be very considerable.

It is however satisfactory to know that the estimates of resistance, which seemed to necessitate these improbable forces, are excessive³⁾, and although we have no precise data for the resistance and the amount of transpiration of the highest trees, there is no reason to assume that the resistance to their transpiration stream is anything

¹⁾ A. J. Ewart, The Ascent of Water in Trees [Second Paper]. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Ser. B Vol. 199, 1908, p. 379.

²⁾ H. H. Dixon, Vitality and the Transmission of Water through the Stems of Plants. Proc. Roy. Dubl. Soc., XII, 3, 1909, and Notes from the Botanical School of Trinity College, Dublin, Vol. II, 1. 1909.

³⁾ Idem, On the Transpiration Current in Plants. Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 79. 1907.

like the equivalent to the pressure of a column of water equal to 6 times their height.

To sum up: The structure of the conducting tissues to which the Vitalists appeal as supporting their views not only does not render this support, but the relation of the living cells to the tubes renders it even impossible for them to exert an elevating force upon the water contained in the tubes.

Experiments which had been quoted in support of the vital hypothesis as demonstrating that when the vital actions of the cells are removed the transpiration stream is slowed down, have been shown rather to indicate that the death of these cells is followed by a stoppage of the tracheae and the more or less complete poisoning of the leaves.

Experiment has failed to show directly the presence of vital sap-lifting forces.

Experiments have abundantly shown that when the vital activities of the cells of the wood are removed, water under the action of purely physical forces rises in the stems of high trees.

Physical Theories.

The vital Hypotheses of the Ascent of the Transpiration Current, as we have seen, take no direct account of the in flow of energy at the leaves. The entire sap-lifting force is applied in the stem. This appears to hold good for all the vital hypotheses with the exception of that of Ewart who admits that possibly some of the energy needed to raise the water may be directly transmitted downwards from the leaves to the stream in the stem. Of course ultimately the energy assumed by the vital hypotheses to be expended in the stem is derivable from the energetic substances formed in the leaves during photosynthesis and afterwards distributed to the cells of the stem.

In the same way some hypotheses which invoke no vital activities, but which depend solely on physical forces, assume these physical forces to be exerted in the stem, and that any transference of the energy from the energy-absorbing leaves to the rising water is indirect, if such a transference occurs at all.

The first of these which calls for mention is the gas-pressure theory of Böhm and Hartig.

According to this theory¹⁾ the evaporating cells of the leaf lose water and their cell-walls are pressed inwards by atmospheric pressure. Then the elasticity of the walls asserts itself, expands the cells and draws water into them again. The water extracted from the tracheae below reduces the air pressure in them and so the bubbles in still lower tracheae expand and drive the water upwards. Each trachea is supposed to act as a suction pump on the water in the tracheae below, and the bubbles at each level are assumed to have a greater pressure than those above. So that ultimately the external atmospheric pressure is responsible for driving the water into the roots and for lifting it to the leaves. Böhm believed that the weight of the water was removed by the resistance opposed by the cross partitions, and by the immobility of the Jamin's chains. He concluded that the movement of the water is a phenomenon of filtration depending on differences of pressure in neighbouring tracheae.

R. Hartig²⁾ a few years later adopted a view which, so far as one can understand either, closely resembles Böhm's air-pressure hypothesis. In the final form of his theory Hartig argued that the function of the air-pressure was to make the pit-membranes permeable and to press the water from one cell to its neighbour; but it did not act to raise the water from one organ to another. To emphasise this point of view he prefers to call his theory the gas-pressure theory in contradistinction to Böhm's air-pressure theory.

Both investigators³⁾ later recognised the inadequacy of their explanations, and, as we shall see shortly, Böhm evolved a completely different view as to the state of the water in the stem, retaining, however, his peculiar ideas as to the function and action of the evaporating cells.

Open as these gas-pressure theories are to almost obvious physical objections, the upholders of them did good service in maintaining

¹⁾ J. Böhm, Ueber die Ursache des Saftsteigens in den Pflanzen. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien, 47, 1. 1863. Idem, Wird das Saftsteigen in den Pflanzen durch Diffusion, Capillarität oder durch Luftdruck bewirkt? Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien, 50, 1. 1864. Idem, Les causes de l'ascension de la sève. Ann. des Sciences Nat. Bot., VI, 6. 1878. Idem, Ueber die Ursache der Wasserbewegung und der geringen Lufttension in transpirirenden Pflanzen. Bot. Ztg., 1881, p. 801. Idem, De la cause du mouvement de l'eau et de la faible pression de l'air dans les plantes. Ann. des Sciences Nat. Bot., VI, 12. 1881.

²⁾ R. Hartig, Ueber die Vertheilung der organischen Substanz, des Wassers und des Luftraumes in den Bäumen, und über die Ursache der Wasserbewegung in transpirirenden Pflanzen. Unters. d. Forst. Bot. Inst. München, II. Berlin 1882. Idem, Die Gasdrucktheorie. Berlin 1883. Idem, Die Wasserbewegung in den Pflanzen. Bot. Ztg., 41, 1883, pp. 250—255.

³⁾ R. Hartig, Holzuntersuchungen. Berlin 1901, p. 9. J. Böhm, Papers since 1889 passim.

that the lumina of the tracheae convey the transpiration stream, in face of the view, generally held at that period, that the walls of the conducting tracts are the most efficient channels for the upward-moving water.

Seeing the fatal objections to which the gas-pressure theory is open, several authors have striven to obtain assistance for this hypothesis by assuming the water in plants distributed in the form of Jamin's chains. To start into motion a column of water interrupted by air bubbles requires a much greater force than would be required to move a continuous water column of the same length. Zimmerman¹⁾ came to the conclusion, in agreement with Naegeli, by comparing the behaviour of various liquids, that this resistance is most probably due to the surface viscosity of water. Strasburger²⁾, quoting Plateau, believes that the resistance is due to the imperfect wetting of the tube. Owing to this resistance, however produced, a broken column of water in a narrow vertical tube may stand at any height — the weight of the individual portions of the column being supported by the walls of the tube. But of course the resistance which a Jamin's chain offers to gravitation will be opposed to any other force exerted upon it. Consequently it is quite illegitimate to suppose that atmospheric pressure could raise a Jamin's chain in the tissues of plants to a greater height than it could lift a continuous column. This becomes evident when we remember that the weight of each partial column exerts a downward force which, by hypothesis, is less than the resistance opposed to motion. Hence it will be easier for a pressure to lift the continuous column.

The inadmissability of the application of the properties of the Jamin's chain is evident for other reasons. It is clear that as soon as the water is free to move round and pass the bubbles of a chain, the walls will be relieved of the weight of the water and the water will exert its full hydrostatic head. That this is the case with water in woody tissues appears immediately from the 'drop experiment' and from the observation that water may be pressed freely past the bubbles. Also, it is evident, the oblique and transverse walls prevent the compound column of water and bubbles moving as a whole. The bubbles must be arrested while the water passes on with little resistance.

Thus so far from the assumption of the presence of Jamin's chains in the wood of transpiring plants being an assistance to the

¹⁾ A. Zimmerman, Zur Kritik der Böhm-Hartig'schen Theorie der Wasserbewegung. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 1, 1883, p. 183. Idem, Ueber die Jamin'sche Kette. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 1, 1883, p. 384.

²⁾ E. Strasburger, Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, p. 816.

sap-lifting forces, it appears that if these chains were present greater forces to move the transpiration stream would be needed. This becomes clearer with a numerical example. A pressure of one atmosphere can raise a continuous column of water about 10 m high. Suppose this column to be replaced by a Jamin's chain of the same height, composed of alternate columns having the same dimensions as those Schwendener records for various trees, viz. each pair consisting of water and air to be 0.50 mm long. To start each of these into motion requires a pressure, according to Schwendener of 6 mm head of water. Therefore to start the whole column upwards would require a hydrostatic head $= 10 \times 1000 \times 2 \times 6 \text{ mm} = 12 \text{ atmospheres}$.

But we need have no uneasiness on this account, for the high permeability of wet wood for water and the restraint it opposes to the passage and enlargement of bubbles render a true Jamin's chain such as is formed in glass tubes impossible in the conducting tissues. For the water, which in a true Jamin's chain is prevented from passing the bubbles, is free, by escaping through the walls to pass unopposed, while the bubbles are compelled to be stationary.

In quite another way the Jamin's chain might be thought available. It is evident that the compound column formed of an alternate series of air and water indices has a smaller average density than a continuous water-column, depending upon the percentage of air included. Supposing the air-bubbles to occupy slightly more than half a tube, then the Jamin's chain in it would have but half the density of a continuous column of water. Hence it might appear that a Jamin's chain of these proportions might be raised to double the height to which the same pressure would raise a continuous water column. And with a higher percentage of air greater heights could be obtained.

But this system evidently cannot be transferred to the stems of trees. There, as we have seen, the conditions are such that the air bubbles and water do not form a chain, or a number of chains, in which all — air and water — move as a whole upwards; but, while the bubbles are held stationary, the water is free to move under the action of any pressure applied to it, and consequently the pressure at the base of a tree must support at least the full hydrostatic pressure of the water in the tree.

Putting aside the increased difficulties introduced by the Jamin's chain, it is hard to form any conception as to how the ascent of water could be effected in the form of a Jamin's chain moving as a whole upwards. Evaporation abstracts the water; but what becomes of the air-bubbles? The resistance opposed by the moist cells walls to undissolved gas must imprison them in the upper terminations of

the tracheae and the accumulation of air must infallibly soon bring the whole process to an end.

From all points of view the introduction of the idea of a Jamin's chain into the discussion of the problem of the ascent of sap is as unwarrantable as it is needless. No assistance in the solution of the problem can be obtained from its properties, while, as suggestive of false analogies, the comparison of the water in plants to that of a Jamin's chain can only be regarded as most unfortunate. It is interesting to note that although this configuration is fully described by Jamin, he does not introduce it as part of his own theory¹⁾ of the ascent of sap, which simply depends on the capillary properties of porous bodies and the difference in the state of saturation in the space round the leaves and that round the roots, and in no way demands the presence of Jamin's chains in the tracheae.

Various writers have endeavoured to explain the rise of the transpiration stream by appealing to the action of osmotic phenomena.

In almost all the vital theories the hypothetical pumping actions of the cells are supposed to be effected by osmosis. Consequently the osmotic hypothesis, so far as the osmotic actions in question are supposed to be manifested in connection with the cells of the wood, has been discussed with those theories. It is in fact hard to see how osmotic pressures can be generated in the conducting tracts apart from these cells. In them only are to be found semipermeable or approximately semipermeable membranes. Larmor's suggestion²⁾ that an upward movement is determined by a gradient of concentration in the solutions contained in the tracheae from below upwards, could only apply to an ideal state of things and is negatived by the facts: (1) The membranes of the tracheae are freely permeable to dissolved substances; (2) No such differences in concentration are found; (3) The resistance to flow upwards and downwards is the same.

Sachs' imbibition hypothesis must be classed among those physical hypotheses which appeal to the inflow of energy at the leaf as directly responsible for the lifting of the water. The assumed passage of imbibed water in the walls of the tracheae could only be compared to the diffusion of a salt in a solvent. The motion upwards is due to the reduced water pressure in the walls above. The initiation and maintenance of this reduced pressure is the work of evaporation kept up by the inflow of heat at the evaporating surfaces. The fatal

¹⁾ J. Jamin, *Mémoire sur l'équilibre et le mouvements des liquides dans les corps poreux*. *Compt. rend.*, 50, 1860, pp. 172, 311, 385.

²⁾ J. Larmor, *Note on the Mechanics of the Ascent of Sap in Trees*. *Proc. Roy. Soc. Lond.*, Vol. 76, B, 1905, p. 469.

objection to this hypothesis resides in the fact that such a motion, being of the nature of diffusion, must needs be very slow, and, being confined to the thickness of the walls of the conducting tissues, would be able to transmit water in vanishingly small quantities. Imbibitionists met this argument, rather lamely, by asserting that water in the imbibed state is surprisingly mobile!

This fanciful statement was soon disproved by experiments showing that the imbibed walls alone are inadequate to transmit the transpiration stream. Thus, by filling the opened lumina of a cut branch with clogging materials, but leaving the cut surface of the walls to absorb and transmit water, it was found that the branch faded long before a control which had its lumina free as well as its walls to transmit water. For this experiment Elfving¹⁾ and Vesque²⁾ used cacao butter, Scheit³⁾ gelatine coloured with eosin, Errera⁴⁾ and Strasburger⁵⁾ gelatine and Indian ink, and finally Joly and the author⁶⁾ obtained the same result after blocking the lumina with paraffin, gelatin and CO₂ gas. The results of the two last, however, showed that a slight upward movement did actually take place in the walls but so insignificant that it could not be of any importance in transpiration.

It is needless now to go into the many arguments which overthrew the imbibition hypothesis. It is enough to say that the ingenuity of the theory and the reputation of its elaborator and defender made it survive an incredibly long time despite the accumulation of crushing evidence from structure and of clear inference from experiment.

Of all investigators Böhm's attitude to the problem of the ascent of sap is perhaps the most difficult to estimate. This is partly because he changed his view, upholding first the air pressure theory and, afterwards, with equal vigour championing capillarity as the lifting force — and partly because his work influenced his contemporaries so little and received such scanty attention from them.

Böhm's own writings, which are always polemical in tone and in some places self-contradictory, were probably largely responsible for

¹⁾ F. Elfving, Ueber die Wasserleitung im Holz. Bot. Ztg., 1882, p. 707.

²⁾ J. Vesque, Recherches sur le mouvement de la sève ascendante. Ann. d. Sciences Nat. Bot., Ser. VI, 19, 1884, p. 188.

³⁾ M. Scheit, Die Wasserbewegung im Holze. Bot. Ztg., 1884, p. 177.

⁴⁾ L. Errera, Une expérience sur l'ascension de la sève chez les plantes. Compt. rend. de la Soc. roy. de bot. de Belgique, Bull. XXV, 2, 1886, p. 28.

⁵⁾ E. Strasburger, Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891.

⁶⁾ H. H. Dixon and J. Joly, The Path of the Transpiration Current. Ann. Bot., Vol. IX, 1895, p. 404.

this attitude of other investigators; and his peculiar physical views and methods of argument rendered his papers very hard to discuss. In these, published over a period of 30 years, are to be found records of much patient experimental work.

We have already seen that he was the first to bring into prominence the air pressure theory. He rendered valuable service in the discussion of the problem of the ascent of sap by withstanding the Unger-Sachs view that the Transpiration Stream moves in the imbibed walls, but on the other hand, by introducing the comparison of the Jamin's chain, he was responsible for much of the obscurity which has long beset the discussion.

Later he became convinced that his earlier explanation was incorrect, and he evolved a new point of view. But owing to his peculiar method of treatment it is very difficult to obtain a clear conception of his new standpoint.

The first published account¹⁾ of what seem to be his final views was written in 1889. In this paper he begins by stating, as his custom was when dealing with the subject, that there are only three forces which can effect the absorption and the raising of the water in high trees. These three forces are (1) Endosmotic pressure, (2) Differences of air pressure, and (3) Capillarity.

He rejects the first owing to the slowness with which it can act — It may be pointed out that, as the area of the surfaces, over which the osmotic action is supposed to take place, is unknown, but may be assumed to be enormous, this argument is without weight — He also discards osmosis because plants continue to draw up water after their roots and stems have been killed either by heat or by poisons.

He concludes that differences of air-pressure can only in part be responsible for the entry of water into the roots and the rise of water in the stems of plants, because the full atmospheric pressure can support a column of water 10 m high only. He also states that, if differences of air-pressure were responsible for the upward motion, rhythmical changes in pressure would be necessary.

In dealing with capillarity he describes an experiment in which a rooted cutting of *Salix*, sealed hermetically into a reservoir completely filled with a dilute nutrient solution, drew up mercury in a tube leading into the reservoir to a height of 64 cms. He further found that, when he had previously boiled the lower half of the stem and the roots of the cutting, it always drew up the mercury to the contemporaneous barometric height. This experiment leads him, apparently, as Strasburger says, by a process of exclusion, to

¹⁾ J. Bühm, Ursache des Saftsteigens. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 7. 1889.

conclude that the absorption and the elevation of the sap are caused by capillarity. He found that the experiment might be repeated with leafy branches of various trees and especially conifers.¹⁾ From this he draws the extraordinary conclusion, that conifers possess vessels in which the sap ascends. He further states, without giving reasons, that osmotic actions are not concerned with the supply of the parenchymatous cells of the leaf, but that this is kept up by atmospheric pressure.

In 1890 Böhm²⁾ reaffirmed these convictions, and he states that the experiment described above shows that the capillary attraction of vegetable vessels compared with glass tubes of the same diameter is incomparably great (unverhältnissmässig gross) and that in plants there are continuous (though intersected with cell-walls) filaments of water. The hydrostatic pressure of these water columns is removed by friction. He considers, harking back to the air-pressure theory, that local movements are decided by pressure differences in the bubbles. Notwithstanding his statement that the water filaments are intersected by cell-walls (von Zellwänden durchquerte Wasserfäden), he goes on to say that, if the conifers were without vessels, it is self-evident that the water could not be drawn in by them. The fact that branches of conifers draw up water renders, for Böhm, the denial of coniferous vessels, i. e. series of tracheids, the members of which are in open communication with one another, simply absurd.³⁾

In his summary he reiterates the statement that the sucking up of water through the roots and the ascent of sap is a capillary function of the vessels. He also considers the weight of the water-columns removed by friction.

Böhm's last paper appeared in 1893.⁴⁾ It is chiefly occupied with a reply to criticisms on his hypothesis, which he summarizes as follows: „dass die Wasseraufnahme und das Saftsteigen durch Capillarität bewirkt wird und daß die Oberhaut und Mesophyllzellen als elastische Bläschen ihren Wasserverlust durch einfache Saugung aus den Gefäßbündeln decken“. He then proceeds to describe several very interesting experiments which are the „Treffer“ out of a very large number. In these he succeeded, by very careful exclusion of undissolved air, to cause transpiring branches to draw up mercury in a narrow tube not only to, but beyond, the barometric height, — in one case up to 90.6 cm. In the light of our present knowledge of

¹⁾ J. Böhm, loc. cit., 55.

²⁾ Idem, Ursache der Wasserbewegung in transpirirenden Pflanzen. Verh. d. k. k. zoologisch-botanischen Gesell. in Wien, 1890, p. 149.

³⁾ J. Böhm, loc. cit., pp. 156 and 157.

⁴⁾ J. Böhm, Capillarität und Saftsteigen. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 11, 1893, p. 203.

the cohesion of water these observations would be readily explained. Böhm's words are such that we might, on first reading, think that he gives this explanation were it not that he records the fact that „Im Torricelli'schen Raume fand sich stets ein winziges Luftbläschen“. The presence of this bubble would of course prevent the cohesion of water coming into play to transmit the tension generated by the transpiring branch.

As a further annotation on the experiment Böhm quotes Jaeger for the statement that the internal pressure (Binnendruck) of water corresponds to about 2700 atm. and adds that "the length which a water filament might theoretically attain in consequence of cohesion is enormous. In comparison with it the highest tree on earth would be a vanishingly small dwarf. Such water filaments, hanging from the evaporating leaf-cells, with their lower ends in connection with the water of the soil, are undoubtedly present in plants".

These words would stand for a description of the cohesion theory of the ascent of sap, and, were it not for other statements, we might suppose Böhm held that view; but throughout this paper, as in all those since 1889, he is arguing in favour of capillarity as supplying the key to the situation, and all through the paper containing the reference to cohesion he shows that he refers the phenomena in the wood to capillarity e. g. „Das saftleitende Holz ist ein sehr complicirtes Capillarsystem und die Capillarität ein noch dunkles Gebiet der Physik“, and in summing up he states „Wir können mit mathematischer Bestimmtheit behaupten, daß die capillare Saugung im saftleitenden Holze gross genug ist, um das Wasser in die Krone der höchsten Bäume zu heben Die Ansicht, dass der von den transpirirenden Blattzellen aus den Leitungsbahnen gesaugte Saft in diesen „unter einem stark negativen Drucke stehe“, wird Strasburger wohl nicht weiter vertreten“. ¹⁾ Here there can be no doubt that Böhm considers that the capillarity of the tracheae raises the water to the top of the conducting tissues and that from these it is conveyed by atmospheric pressure to the leaf cells.

I have made these quotations and given literal translations from Böhm's papers to enable the reader to gain some idea of the relation of his work to the views of other investigators. But owing to his contradictory expressions it will, I am afraid, be always impossible to clearly follow him. His views, so far as we can get at them, seem to be: — that the capillary forces of the tracheae draw up the water in the tree, atmospheric pressure drives water from the topmost tracheae into the evaporating cells; Böhm saw no difficulty in the

¹⁾ J. Böhm, Ursache der Wasserbewegung in transpirirenden Pflanzen. Verh. d. k. k. zool.-bot. Gesell. in Wien, 1890, pp. 151 and 156.

height of the water columns owing to the cohesion of water; but without doubt he was quite astray as to the conditions under which cohesion could act, as a glance at his diagram and his statements regarding the capillary forces of the wood will immediately show.

In 1894 Dr. J. Joly and the author published the first account of their cohesion theory of the ascent of sap. Our attention had been called to the problem in the year 1892 when Prof. Strasburger had been good enough to show us some of his experiments on high trees. After more than a year's experimental work and discussion we were able to give an outline of our theory to the Dublin Univ. Experimental Science Association in March 1894, and all the essentials were communicated to the Royal Society in October of the same year.¹⁾

In the work leading up to our theory we naturally submitted the theories of previous investigators, so far as we were acquainted with them, to full consideration and experimental examination. In addition to these we subjected various other hypotheses formed by ourselves to investigation.²⁾ As these investigations naturally lead us up to the cohesion theory it may be permissible to briefly outline them here.

In the first place it seemed possible that perhaps gravitation itself might furnish the lifting force of the upward moving water. This at first seems paradoxical. Suppose the dilute sap in the leaves to be concentrated by evaporation and by the addition of carbohydrates. The denser fluid thus produced and passed into the tracheids would settle downwards. As it passed down it would displace upwards the less concentrated solutions entering at the root. An accumulation of the denser material in the lower part of the tree may be supposed to be prevented by the abstraction of materials from the concentrated sap all the way down. In this way it is secured that the ascending 'raw' sap is just overbalanced by the denser descending column and the very dilute solutions brought into the root might in this way be raised to any height. A model illustrating the hypothesis is easily set up. A tube say 1 mm bore and closed at the lower end is filled with a solution of a dye, e. g. Fuchsin, and set upright. A small funnel containing a denser salt-solution is attached to its upper end. The heavy solution immediately begins to gravitate downwards and in doing so displaces an equal volume of the lighter

¹⁾ H. H. Dixon and J. Joly, On the Ascent of Sap (abstract). Proc. Roy. Soc. Lond., Vol. 57, (1894), B, p. 3 and On the Ascent of Sap. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 186, (1895), B, pp. 563 et seq.

²⁾ H. H. Dixon, On the Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College Dublin, 2, 1897, p. 4.

fluid upwards. The rise may be noted by the passage of the coloured fluid upward in the funnel.

There is no doubt that this mechanism could work in uninjured plants whose roots continued to pass comparatively pure water into the conducting tracts, provided there were an arrangement to prevent the mixing of the descending and ascending fluids. In the plant, we may suppose, the column is not supported below as in the model, but is held up by the capillary forces of the imbibed cell-walls. This would explain the presence of reduced air pressure in the cavities of some of the wood tracheae, which would be impossible if the water surrounding them were in compression. But however promising for a time, the theory had to be given up. The mingling of the dilute ascending solutions with the concentrated descending fluids which inevitably takes place in narrow tubes, would certainly destroy this gravitational action in the tracheae of plants, and there is no evidence whatever of isolated upward and downward currents.

Quincke's theory ¹⁾ (which suggested itself independently to us) viz. that the water is drawn up in a tensile state over the surfaces of the walls of the conducting tracheae in the form of a thin film, had also to be laid aside. Not, however, by reason of Sachs' objection, who rejected it because there are not continuous tubes in plants. In reality this objection is quite invalid, since the water films may be regarded as continuous through the imbibed material of the transverse and oblique walls. Nevertheless the theory had to be abandoned, since, as we shall see later, such a film of water unsupported on one side if exposed to tension infallibly draws out thinner and thinner until it breaks across and leaves no water on the surface.

A modification of this theory, combining it with the Unger-Sachs imbibition theory, then suggested itself. In order to escape the inevitable thinning out of the unsupported water films, we assumed with Sachs that the moving water is located in the substance of the walls, and that the surface-tension forces developed at the surface of the fine-textured substance of the wall prevent the water from drawing out thinner and thinner. Thus the tension generated at the leaves is transmitted downwards through the imbibed water in the walls. This theory has undoubted advantages over the imbibition hypothesis. It replaces the diffusion flow by a movement under great tensions, and so the rate of transmission may be increased proportionately to the increased tension. But it is open to many of the objections which overthrew the imbibition hypothesis, viz., the

¹⁾ J. von Sachs, Lectures on the Physiology of Plants. Trans. by H. Marshall Ward, Oxford 1887, p. 238.

lumina are known to transmit the major part of the current and it seems improbable, even where we can invoke such great forces as the tensile strength of water, that they could suffice to drag an adequate water supply through the fine grained cell-walls. Yet we were able to show by experiment that even when the lumina are rendered impassable for water, some small amount of water is transmitted in the walls by this process.¹⁾

When we found ourselves compelled to give up these hypotheses, the one, as assuming conditions inimical to the transmission of tension in the water, and the other, because it did not agree with the ascertained fact that the water moved in the lumina, it was an easy transition to arrive at the conclusion that the water passed up in the lumina in a state of tension. How, in the lumina of the conducting wood, the necessary conditions for the production of tension are fulfilled, we shall now proceed to enquire.

Even in Text Books of Physics the cohesion of liquids is seldom alluded to, and the conditions necessary to produce a state in which liquids may transmit a tensile stress are not adequately treated.

Donny²⁾ in 1846 showed that it was possible for a column of sulphuric acid 1.255 m high to hang in a vertical tube closed at its upper end, when atmospheric pressure was not allowed to press the liquid upwards from below. He compares the phenomenon to the well known experience that the mercury of a barometer may be retained above the actual barometric height, if the tube, filled by inclining it, is raised gradually to a vertical position. He further states that this phenomenon has been explained by Laplace³⁾ as being due to the cohesion of the mercury and to its adhesion to the glass. Donny also looked for the cohesion or tensile strength of water. He appears, however, to have failed to demonstrate it in the same way which had been successful in the case of sulphuric acid. He observed, however, the tensile strength of water in the following less direct manner: If a vertical glass tube one metre long partially filled with water and sealed at both ends is struck vigorously on the lower end with the palm of the hand, bubbles open in the liquid and instantly close again with a metallic click. A blow on a tube, which has been similarly set up, but from which the air has been removed by careful exhaustion, produces no bubbles; nor is a click

¹⁾ H. H. Dixon and J. Joly, The Path of the Transpiration Current. *Ann. of Bot.*, Vol. IX, 1895, p. 404.

²⁾ J. Donny, Sur la cohésion des liquides et sur leur adhésion aux corps solides. *Ann. de Phys. et Chim.*, Sér. III Tome 16, 1846, pp. 167 et seq.

³⁾ Laplace, Mécanique céleste. Supplément au X^e livre, p. 3. Quoted by Donny, loc. cit.

heard. Donny explained that in the first case the blow causes minute bubbles to be opened against the forces of surface tension and of atmospheric pressure, therefore in the second case where bubbles are not formed the cohesion must be greater than these two forces together. Donny believed that even a little air in solution suffices to reduce the cohesion of a liquid to an insensible figure. This error, soon to be corrected, has been frequently copied by writers on this subject. Donny also points out that the boiling of liquids is retarded when air is removed, owing to their increased cohesion and it is the cohesion being suddenly overcome which causes explosive boiling.

As will immediately appear, the removal of dissolved air by boiling from the water is by no means necessary for its cohesion, and in these experiments on the tensile state of liquids it is only necessary in order to secure perfect contact with the glass and complete wetting of the dust particles suspended in the liquid.

In his memoir Donny¹⁾ points out that when one withdraws a plane disc from contact with a surface of water the tensile strength of the latter does not come into play. As the disc is raised water adheres to its lower surface, but the column of water connecting the disc with the liquid below grows gradually thinner, until a moment when the disc is removed a certain distance above the general level of the lower liquid, then the column spontaneously draws in from the edges of the disc, and, when its diameter becomes extremely small, breaks in two. He shows also, that in a tensile liquid column a bubble, sufficiently small to have surface-tension forces capable of supporting the hydrostatic head of the liquid below, will not destroy the tensile state.

Berthelot²⁾ a few years afterwards succeeded in showing directly that water has a very considerable cohesive strength and, under proper conditions, can sustain a very great tensile stress. His procedure was as follows: He filled a strong capillary tube, which was sealed at one end and drawn to a fine point at the other, with water at a temperature of 28° or 30° C. He allowed it to cool to 18°, and, as it cooled, to draw in air. Then the fine-drawn end was sealed. The tube was now heated to 28°, or over, and the air forced into solution in the water which now occupied the whole of the internal space of the tube. On cooling to 18° or lower, it was found that the liquid continued to occupy the entire space enclosed by the

¹⁾ The presence of undissolved air, or unwetted surfaces, or both, probably prevented Janse from obtaining considerable tensions in the experiment quoted by him. *Der aufsteigende Strom in der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot.*, 45, 3 (1908) p. 314.

²⁾ M. Berthelot, *Sur quelques phénomènes de dilatation forcée des liquides. Ann. Chim. et de Phys.*, XXX, 1850, pp. 232 et seq.

tube and preserved in this way the same density from 28° — 18° . The dilatation needed to effect this is very large, viz., for water $\frac{1}{120}$ of its volume at 18° C. To produce a similar effect in the opposite sense would require a pressure of about 50 atm.

The experiment shows that neither the adhesion to the glass nor the cohesion of the water is less than 50 atm.

Berthelot's experiment has been variously misquoted (1) with regard to the dilatation observed and (2) as to the affect of dissolved air on the tensile strength of water. The dilatation¹⁾ has been quoted as amounting to $\frac{1}{120}$ of the volume instead of $\frac{1}{120}$. This of course gives a much too high result for the tension obtained in the experiment. Hence Ewart's quotation of Berthelot in support of the statement that air-free water can sustain a tension of 200 atm. was illegitimate.²⁾ The minor limit obtained in Berthelot's experiment was 50 and not 200 atm.

Again it is quite usual³⁾ when treating of the cohesion of liquids to state that Berthelot's experiments were carried out with air-free liquids. As a matter of fact his method of experiment shows that the water contained air, and he expressly states that the water was, in his first experiments, supersaturated, and that it was only at Regnault's suggestion that he carried out experiments on air-free water. His final conclusion is "Le phénomène (dilatation of water under tension) se produit donc dans le vide aussi bien que dans l'air, et est indépendant de la sursaturation".

Misled by the misquotations just alluded to, although *à priori* there seemed no reason to suspect that the presence of dissolved air would weaken the tensile strength of water, Dr. Joly and the author⁴⁾ considered it necessary to investigate the point specially.

We used a cylindrical glass vessel with rounded ends and provided at one end with a narrow tubulure. This vessel was very carefully cleansed by washing it internally successively with caustic potash solution, dilute acid and distilled water. Half filled with water it was boiled for some time to make sure that the walls were thoroughly wetted; then it was almost completely filled with water which had been previously boiled to get rid of undissolved air and to thoroughly wet all dust particles which might have been contained in the liquid. By

¹⁾ Poynting and J. J. Thomson, Text Book of Physics: Properties of Matter. 2nd Ed., p. 123.

²⁾ A. J. Ewart, The Resistance to Flow in Wood Vessels. Ann. of Bot., 1908, p. 444.

³⁾ A. M. Worthington, On the Mechanical Stretching of Liquids. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 183, (1892), A, p. 355. Poynting and J. J. Thompson, loc. cit.

⁴⁾ H. H. Dixon and J. Joly, On the Ascent of Sap. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 186, (1895), B, pp. 568 et seq.

subsequent exposure to air this water was allowed to become saturated with dissolved air. During exposure care was taken to shield the water from dust, which might not have been completely wetted or which might have introduced small bubbles. To fill the vessel a small quantity of water in it was raised to ebullition, and, while steam was issuing from the attenuated tubulure, the latter was submerged in the dust-free water. As the steam within condensed and the vessel cooled the latter became completely filled with water. A small bubble was then introduced and the vessel was closed by sealing off the tubulure.

If the vessel was then cautiously heated, the water expanded more than its glass envelope and the air bubble was compressed. The bubble became smaller and smaller as the temperature rose and the contained gas was forced into solution. When the bubble had reached very small dimensions and was about to disappear great care had to be exercised in the further application of heat; for if the water expanded too much and strained the glass beyond its elastic limit, the whole experiment was rendered abortive by the breaking of the glass. But, if the heating process had been carried on successfully and all the air had been dissolved so that the water had been made to completely fill the vessel without breaking it, heating was stopped and the water ceased to expand.

At this moment the water in the vessel was either in compression being constrained by a tension in the glass-walls, or it was quite unconstrained, just exactly filling the envelope, and neither suffering compression nor causing tension in the walls. As soon as cooling began, the water and the glass commenced to contract. The coefficient of expansion for heat of water being greater than that of glass, the water tended to contract more. This contraction however was resisted by its adhesion to the glass and its own cohesion, and consequently a stress or tension, which kept it sufficiently dilated to fill the glass was set up. As cooling proceeded the tension grew greater and greater, till at last either the adhesion or cohesion was overcome and a break appeared either between the water and the glass or in the substance of the water itself. The appearance of this rupture was signalled by a sharp click, and a bubble sprang into existence in the water. The bubble thus produced rapidly augmented in size as the water, now relieved from the stretching forces assumed a volume corresponding to its temperature at the moment. Bubbles appear round the original bubble and pass into it.

By estimating the amount of deformation¹⁾ of the glass envelope when strained by the contracting water, and by determining experi-

¹⁾ H. H. Dixon and J. Joly, On the Ascent of Sap. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Vol. 186, (1895), B, p. 569.

mentally the pressure needed to produce the same deformation, the amount of the tensile stress which was sustained by the water before rupture was determined. In an experiment, carried out in the manner just described, water was subjected to a tension or pull equivalent to 7.5 atmospheres before its cohesion was overcome.

As was noticed this method of showing the cohesive property of water is precarious — the slightest overheating is liable to burst the glass vessel containing the water. It is convenient therefore to have a more simple method of demonstrating this property, which may be repeated as often as is desired without risk. The following method fulfils these conditions¹⁾:

The vessel in which the liquid is to be enclosed is a J-shaped glass tube about 1 cm in diameter (see Fig. 3). The long limb of the J is about 90 cms while the shorter one is about 20 cms long. On the shorter limb there is a bulb with a capacity of about 60 ccs. The shorter limb is continued beyond the bulb as a narrow tube drawn out to a point. The whole tube is carefully washed out in the manner described in the preceding experiment and about 100 ccs of repeatedly boiled water is introduced into it. In order to be certain that the glass is thoroughly wetted, and also to make sure that the water is in perfect contact with any dust particles contained in it, the liquid is again repeatedly boiled after introduction into the tube. Before sealing off the fine tube the whole of the space unoccupied by the liquid is filled with steam by bringing the water to ebullition, and, when the steam has expelled the air and is issuing through the narrow tube the latter is sealed off. When the whole has cooled it will be found that the J-tube acts as a water hammer, i. e. if, by inclining the tube the water is made to travel from end to end, its concussion makes a metallic ring. This is owing to the fact that very little air has been included when the tube was sealed, and water-vapour at normal temperatures is unable to act as an elastic pad in the same way as air at normal atmospheric pressure would. The clicking metallic ring then may be

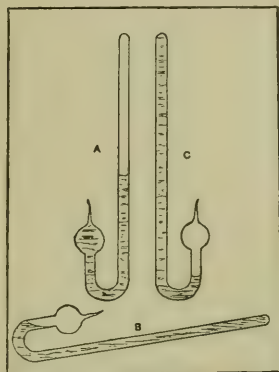


Fig. 3. Tube for showing the cohesion of water. *A* position assumed by the contained water when the tube is supported vertically and when cohesion is not acting. *B* inclined position for filling the long arm of the tube. *C* position in which the water is held, when its cohesion prevents its falling into the bend of the tube.

¹⁾ H. H. Dixon, *Physics of the Transpiration Current*. Notes from the Botanical School, Trinity College Dublin, No. 2, 1897, p. 5.

taken as an indication that the gas-pressure within the tube is very slight. Care must indeed be taken not to let the concussion become too violent, as in that way the tube may be easily shattered.

If now, by carefully inclining the tube, the long limb is completely filled with water (Fig. 3 *B*) and all the bubbles are chased out of that limb by holding the bent end uppermost, so that no breaks, even the most minute, remain, we will find, on inverting the tube and bringing the bent end under, that the water remains in the long limb and does not under the force of gravity take up the lowest possible level in both limbs (Fig. 3 *C*). From the level in the two limbs it is evident that the hydrostatic pressure of the shorter column cannot possibly balance the pressure of the column in the longer limb. The one is about 85 cms higher than the other. The water in this case, like the sulphuric acid in Donny's experiment, hangs in the tube. The liquid in the long limb is in contact with the glass all over, and, since it wets it perfectly, it adheres to it. To the film of water adhering to the glass the rest of the water coheres, and this cohesion is much more than able to sustain the weight of the column of water which is counterbalanced by no other upholding force. In this way the lower part of the water in the longer limb of the tube transmits through the upper part a stress to the glass equivalent to its gravitational pull.

The reality of this pull becomes all the more striking when, by destroying the cohesion at one spot, a rupture is started. This rupture, which may be at first invisibly small, rapidly spreads across the whole column. The rupture may usually be started by a sharp knock administered to the side of the longer limb; but, when the cohesion is very perfect, to produce a rupture may require a shock so violent as to be liable to shatter the tube. When the rupture is started, the lower part tears suddenly away from the upper part of the column and falls into the bend of the tube. The upper part follows it more slowly, trickling down the inside of the tube, and all the water comes to occupy a position in the lower part of the tube (Fig. 3 *A*).

It is instructive to note how the cohesion of the water in these experiments is overcome. The rupture starts as an extremely small space or discontinuity in the water. Immediately surface tension forces develop at the surface of this bubble. At its inception, being extremely small these forces are very great, but if the bubble enlarges, the surface tension forces tending to close it rapidly diminish. In our experiments the forces tending to open it are (1) the momentum of the water conferred on it by the shock, and (2) the gravitational pull giving rise to the tension in the liquid. We may neglect the vapour pressure of the bubble, as it is balanced by the vapour in the other

limb. If the break opened by the shock is so small that its surface tension forces can withstand the tension in the liquid, the bubble will close again. But if once the bubble formed is so large that its surface tension is overcome by the tension of the liquid, an unstable condition is entered on, and the bubble is continually enlarged till the tension of the liquid is nil. It is however evident that if at any moment we could confine the bubble and prevent it from enlarging, the liquid would again pass into a state of tension due to the weight of the lower parts.

Quite recently the author¹⁾ has been able, by using Berthelot's method, to show that the cohesion of water amounts at least to 150 atmospheres and that water, even when subjected to a tension of this magnitude, refuses to be severed from the walls of the conducting tracts of plants. The water used in these experiments was saturated with air and contained in it pieces of the conducting tracts of plants. The range of temperature over which this cohesion was exhibited lay between 25°—80° C.

The theory of the Ascent of Sap, which Dr. Joly and the author advocate, assumes that the water in the conducting tracts of high trees hangs there by virtue of its cohesion just in the same way as the water hangs in the J-tube. The adhesion of water to the walls of the tracheae may be shown to be very great. Thus, if a fresh piece of wood from the conducting tracts is enclosed in a vessel filled with water in a state of tension, it will be found that in every case rupture will occur at the surface of the glass rather than at the walls of the tracheae. The adhesion of water to the walls of the conducting tubes is thus probably always greater than the adhesion of water to glass. This is quite to be expected, when we take into account the manner in which water permeates the substance of the walls of the tracheae when it is brought into contact with it.

The teaching of all these experiments is obviously that water under suitable conditions can transmit a pull just like a rigid solid. In the liquid, however, the stress is hydrostatic, and, like hydrostatic pressure, is transmitted equally in all directions. It is not sustained consequently by a single point but affects the whole internal wetted surface of the containing vessel. In another particular the stressed liquid differs greatly from the stressed solid. It is much more unstable. A small flaw (i. e. a bubble) in the tensile liquid rapidly spreads and almost instantaneously severs the whole column; it matters not how large the cross section of the unbroken part may be, a comparatively feeble tension will tear it across. In the solid — a metal wire for

¹⁾ H. H. Dixon, Note on the tensile Strength of Water. Proc. Roy. Dublin Soc., 1909 and Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, Vol. II No. 1. 1909.

example — on the other hand, if the cross section of the unbroken part is sufficient, a small discontinuity in its substance is immaterial, and the stress may be successfully resisted by the intact part. This difference in the behaviour of the two forms of matter when submitted to a stretching force is to be referred to the fact that the particles of a liquid are perfectly mobile and are free to move round each other without being opposed by any sensible internal forces, whereas in solids there is a great opposition to the relative motion of the parts. To this property solids owe their rigidity. In fact, in tension experiments the liquid becomes capable of sustaining¹⁾ and transmitting tensile stresses only when it is adhering completely to a rigid envelope which confers on the liquid a pseudo-rigidity. The state of tension then persists because the stretching forces act solely against the cohesive properties of the liquid (i. e. in an endeavour to separate the water molecules from one another — a separation which a liquid is able to withstand as well as a solid). If however the liquid is free to change its shape, not adhering to any rigid envelope, the smallest forces, whether of compression or of tension, spend themselves in leading to a readjustment of form to which the liquid owing to its mobility readily submits, and no stress is produced. On the other hand if a pull is exerted on a liquid which thoroughly wets and adheres to the internal surface of a rigid vessel, and, if there are no bubbles or discontinuities in the liquid, a state of tension inevitably supervenes.

We have seen that the evaporation taking place from the outer surfaces of the mesophyll cells is continually abstracting water from the tracheae of the leaf. It is a matter of common observation that these tracheae are constantly filled with water and they enclose no bubbles. Experiments on pieces of the conducting tracts of plants as described above, show that the adhesion between their walls and water is as great as, and probably much greater than, the adhesion between glass and water. Hence, if water is given off from the cells more rapidly than lifting forces raise it in the tracheae, the water in the latter must inevitably fall into a state of tension.

Apart from root-pressure, investigation has shown that the only force from below which is effective in raising water in plants is the pressure exerted by the atmosphere. The amounts of water forced up by root-pressure are insignificant compared with the losses due to transpiration. Atmospheric pressure can supply the evaporating cells at most only up to a level of about 10·3 m. When allowance is made for the resistance opposed by the conducting tracts to the

¹⁾ H. H. Dixon, *Physics of the Transpiration Current*. loc. cit.

motion of water in them, we must conclude that the supply of water raised by these two forces to a height of 10 m above the roots must be exceedingly small. It follows that the water in the tracheae above this level is at all times in tension, and, in times of vigorous transpiration, whenever the loss cannot be made good by the lifting pressure of the atmosphere, the water in the tracheae of leaves at lower levels also, is in a tensile state. This tensile state is no less inevitable at the top of a column of water unsupported at the base, such as is found in a high tree, than is the state of compression at the bottom of a deep vessel filled with water. The former is caused by the weight acting against the cohesive forces of the water, while the latter is necessitated by the weight acting against the resistance of the water to crushing.

Owing to the permeable nature of the walls, the water in one trachea is continuous with that in its neighbours and, consequently, the tension in one is transmitted to the water in adjacent tracheae. Thus the tension applied at the mesophyll cell-surfaces is transmitted downwards, through the water in the tracheae of the leaf and of the petiole, to the water in those of the stem.

While air bubbles are found extremely rarely in the tracheae of the vascular bundles of the leaf, investigators seem agreed that they are of common occurrence in the conducting tissues of the stem. It is evident that in the tensile water in plants these bubbles will behave exactly in the same way as we have seen bubbles behave in the experiments on tensile fluids. If they are sufficiently minute they will have a very small radius of curvature and the surface tension forces preventing them from enlarging will be correspondingly great. When these forces balance, or are greater than, the tension in the water, the tension will be transmitted past the bubbles, and, if the bubbles adhere to the walls of the tracheae, the tensile stream will be drawn past them. Kamerling¹⁾ has shown that a bubble having a radius of 0.01 mm is in equilibrium with a pull equal to the hydrostatic head of 1.65 m. While one having a radius of 0.001 mm = $1\ \mu$ could resist the tension exerted by a column of 16.5 m of water. Bubbles having a radius of $1\ \mu$ would just be visible with the highest dry objectives commonly in use, their diameter being about $\frac{1}{5}$ of the diameter of the lumen of the finest tracheids of the pine. Bubbles of this minute size are almost never observed in the tracheae of plants. In fact the methods of preparation, involving as they do the relief of the existing tension, or even the exposure to atmospheric pressure, would cause bubbles of this magnitude to disappear. A tension anything greater than the pull exerted by a column of water 1.65 m will overcome the

¹⁾ Z. Kamerling, Oberflächenspannung und Cohäsion. Bot. Centralbl., 73. 1898.

surface tension of bubbles having a diameter of 0.02 mm and they will tend to expand indefinitely under its action. Tensions as great as this must frequently occur in plants. On first thoughts it might appear then that one bubble having a diameter of 0.02 mm or more would destroy the possibility of tension in the water of the conducting tracts. A moment's consideration, however, will show that the structure of these tracts sets a limit to the enlargement of the bubble. In the conducting tracts after the formation of a bubble the sequence of events will be as follows: The water round the bubble is drawn away by the tension and the surface of the bubble comes to rest against the wall of the trachea in which it has developed. The retreating surface is held by the wall and, as more water is drawn away, the bubble can enlarge only longitudinally. At this period the surface tension of the spherical bubble is replaced by the capillary forces of the tubular trachea, and, the capillary forces developed in these tubes being insufficient to withstand the tension, the bubble gradually pulls out till it completely fills the trachea. When this stage is reached the bubble can enlarge no more; its surface is restrained on all sides by the walls of the trachea which, as is well known, though very permeable to water, are so fine-grained that their capillary or imbibitional forces are enormous and hold the surface of the water, limiting the bubble close to their inner surface. Surrounded thus by the imbibed and rigid wall of the trachea the bubble becomes just like a wetted solid or rigid body in the tensile current. No doubt it diminishes the effective cross section of the flow, but, owing to the fact that the conducting tracts are subdivided into such numbers of minute compartments, the development of even a large number of bubbles is unable to wreck the stability of the tensile column of water in the wood.

The state of affairs in the conducting tissues is illustrated in Fig. 4. For the sake of simplicity a longitudinal section of a conifer's wood is represented. The shaded tracheids are supposed to be filled with water, while the light spaces indicate those containing air-bubbles, which have been expanded by the tension of the transpiration stream till they completely fill the tracheids in which the bubbles occur. It is evident that even when a large number of tracheids are blocked with air, the water column in the wood is not broken, but is drawn round the bubbles enclosed in and rendered harmless by the walls of the tracheids. In the figure for example 50% of the tracheids contain bubbles and yet a considerable volume of water might be drawn up in the remaining tubes. The imbibitional properties of the walls of contiguous water-filled tracheids render the water throughout the stem continuous. Consequently the stress developed above is transmitted round the air bubbles and draws the stream past them, to use

Schwendener's figure, like islands in a river. Hence it is evident that it would be impossible to sever the continuity of the water in the conducting tracts, i. e. to prevent evaporation above from transmitting a pull to the water in the roots, unless tracheae containing bubbles were to form in some place an unbroken diaphragm across the conducting tissues of the stem.

From this examination it appears that, unless an exceedingly large number of the conducting tubes contain air and are arranged in a special manner, there is no likelihood of the tensile column being broken. On

the other hand the amount of water transmitted in the stream will be affected by the number of tracheae which contain bubbles and which are consequently put out of action in the transmission of water drawn upwards under tension. Hence it is of interest to enquire into our state of knowledge as to the air-contents of the conducting tracts.

Results like Hartig's¹⁾, where the amount of air present is estimated as a percentage of the volume, cannot be utilized



Fig. 4. Diagrammatic representation of a tangential section of the wood of a conifer during transpiration. The shaded lumina are supposed to be filled with water; those which are left unshaded are occupied by bubbles. About 50% contain water in the case figured.

¹⁾ R. Hartig, Ueber die Vertheilung der organischen Substanz, des Wassers

here. These results do not tell us how the air is distributed, and it is evident that 10 % of air occurring in each trachea might effectively destroy the cohesion of the transpiration current, while 50 % placed in half the tracheae would only diminish the maximum transmissibility for a given tension to one half.

Attempts to estimate the number of the vessels and tracheids which contain air have been made on various occasions¹⁾; but unfortunately, as we shall see later, all the methods hitherto adopted are probably open to error. Of these Strasburger's²⁾ results seem to be those obtained with the greatest care. His method was as follows: A branch cut from a tree under water, was kept for half an hour in a dark moist space, in which transpiration was reduced to a minimum. In this way the gas pressures in the branch were brought into equilibrium with the atmosphere. From the middle region of this branch a piece about 10 cm long was then cut under water, and this piece while still submerged was split down the middle. The flat surface thus made was raised out of the water and covered with a viscid fluid, e. g. olive oil, glycerine or a mixture of glycerine and gum. It was then ready for microscopic examination. Strasburger took account only of uninjured tracheids and, as far as possible, of uninjured vessels. Consequently he gives most weight to his observations on the conducting tracts of the Coniferae.

He examined in midsummer branches of *Picea*, *Pinus*, *Larix*, *Abies* and *Tsuga*. All of these showed that very few bubbles were present in the tracheids of the outer year rings and those occurring there were for the most part confined to the tracheids of the late or summer wood.

An examination of the wood of *Pinus*, *Larix* and *Abies* made in winter gave generally the same result except that the scattered bubbles were found in the tracheids of the spring as well as the summer wood. A frozen branch of *Tsuga* taken at the same time contained air bubbles in many of the tracheids, even of the outermost year ring after it had been thawed out for examination.

Strasburger also records observations on a few dicotyledonous trees. Thus branches of *Robinia*, *Wistaria* and *Quercus* in summer showed very few bubbles in the larger vessels of the last year ring, in the next somewhat more, and a still further increased number in the third and so on. Special attention was paid to the air-contents of the vessels of *Ficus*, *Acacia* and *Salix*. In these genera, Stras-

und des Luftraumes in den Bäumen, und über die Ursache der Wasserbewegung in transpirirenden Pflanzen. Berlin 1882.

¹⁾ Fr. Elfving, Ueber die Wasserleitung im Holz. Bot. Ztg., 42. 1882.

²⁾ E. Strasburger, Ueber den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, pp. 677 et seq.

burger believes, the transpiration current must pass in the vessels almost exclusively. Strasburger records that these vessels contained little air although they were not completely air-free. The observations were made in summer.

Branches of *Robinia*, *Quercus*, *Acer* and *Betula* which had been frozen hard were examined in winter. All were relatively richer in air than those examined in summer.

Strasburger deduces from his observations that, while a limited amount of air does not make the conducting tracts impassable to water, yet in the peripheral parts, which are principally used in the transport of water, the number of air-bubbles is a minimum.

Ewart¹⁾ has also endeavoured to estimate the number of air-containing tracheae. He applied to the bases of cut branches a head of $1\frac{1}{2}$ —2 m. of water. The experimental branch was placed horizontally and the distal end cut off. The cut surface of the stump was examined with a lens. From the cut surface of *Wistaria* branches, treated in this manner from June to September, water begins to exude almost instantaneously from the vessels. If the pressure is raised scattered air bubbles emerge in the stream. In September the number of bubbles was greatest, but even then, Ewart thinks that the number of vessels containing continuous water columns never fell below 10 %. In the case of the *Maple* and *Poplar*, treated similarly, Ewart believes that during June, July, August and September all the vessels contain air at reduced pressure, because at all times it took 20—75 minutes before water began to exude from the vessels. He gives no estimate as to the air and water content of the tracheids. He also states that on cutting these stems under mercury the liquid was drawn into all the wider elements. He considers, in contradiction to Hartig's results, that the more distal parts contain most air.

On the whole Ewart gives a lower estimate of the number of tracheae completely filled with water than Strasburger does. On the other hand Strasburger's results are much more numerous, and possibly Ewart's were made when the water content of the branches was extremely low. Both methods seem open to criticism.

When a branch is cut, even under water, it is possible that bubbles are formed in the tracheae by the act of cutting. Bubbles may be formed anywhere close to the knife but naturally mostly in the tracheae in contact with the knife on either side, as the knife introduces a discontinuity and the water adheres feebly to it. Probably some of the bubbles observed were thus formed at the moment of

¹⁾ A. J. Ewart, On the Ascent of Water in Trees. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 199, (1908), B, p. 362.

making the preparation for examination and were non-existent when the plant was transpiring.

In Ewart's experiments the internal and external pressures were not given time to come into equilibrium; consequently supposing 20 % or 30 % of the vessels contained continuous water while the remaining 70 %—80 % contained gas at reduced pressure, as soon as the branch was cut across atmospheric pressure would drive the water from the full vessels opening on to the cut surface into those which contained gas at a low pressure, and vessels which had been full and transmitting a tensile stress during transpiration, would appear almost empty after cutting. Ewart himself considers that 10 % of the vessels of last year's wood¹⁾ would transmit enough to cover the losses of the most vigorous transpiration. Even if a much larger percentage than this were completely filled with water at the time of cutting, they would elude observation in this method of investigation.

Both Strasburger and Ewart have shown that coloured liquids rise most rapidly in the tracheae containing unbroken columns.

It will be seen that although our knowledge as to the actual proportion of tracheae containing bubbles during transpiration is very unsatisfactory, yet we have no evidence that the continuity of the whole water column is ever during transpiration interrupted in plants.

Here it will be interesting to consider the structure of the conducting tracts and to see how far their details bear out the theory of the tensile sap.

The salient feature of this structure is the subdivision of the water-ways by an immense number of longitudinal and transverse partitions into minute compartments — the vessels and tracheids. For a system, the function of which is to conduct fluids, this is evidently a most unexpected configuration. It is true that the partitions are permeable to water; but when a considerable distance is to be traversed, the sum of the resistances opposed by the walls to the flow is not inappreciable. This becomes clear from the experiments of Böhm²⁾, Elfving³⁾ and Strasburger⁴⁾, comparing the con-

¹⁾ A. J. Ewart, On the Ascent of Water in Trees. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 199, (1908), B, p. 362.

²⁾ J. Böhm, De la cause du mouvement de l'eau et de la faible pression de l'air dans les Plantes. Ann. d. Sci. Nat. Bot., XII, 1881, p. 233. Idem, Ueber die Ursache der Wasserbewegung und der geringeren Lufttension in transpirirenden Pflanzen. Bot. Ztg., 49. 1881.

³⁾ Fr. Elfving, Ueber die Wasserleitung im Holz. Bot. Ztg., 42. 1882.

⁴⁾ Ed. Strasburger, Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen. Jena 1891, p. 739.

ductivity of wood in tangential and longitudinal directions. From them is seen that the pressure required to force water in a tangential direction is immensely greater than that needed to urge it longitudinally in the wood, although in both cases the water is free to move through the pits. In the tangential direction, however, in the same distance the number of walls traversed may be hundreds of times greater than in the longitudinal path. It is evident that the persistence of the walls in the development of the water-conduits of plants — introducing, as they are shown to do, an immense resistance to flow — is inexplicable on any view which regards the water as being forced through the stem. Viewed, however, in the light of the tension hypothesis this structure becomes a most beautiful adaptation to confer stability on the tensilely stressed transpiration stream, and one which transforms the water, despite its mobility, into a substance which is stable while sustaining very great stresses, just as if it were a rigid body. True, the tensile stream experiences the resistance opposed by the numerous walls, but the presence of the partitions, conferring, in the manner just pointed out, a new property on the water, renders available such an enormous source of energy at the evaporating surfaces in the leaves for the lifting of the sap, that the amount of energy which is spent in overcoming the resistance opposed by the walls is relatively insignificant.

The elongated form of the conducting elements secures that the resistance shall be small consistently with the stability of the water; for, of course, if the tension is great, a bubble in a long tube renders a larger portion of the conducting tissues useless than one confined in a short vessel; but on the other hand when the long tube is completely filled it transmits more readily than if it were subdivided into a number of tracheids. Hence we may regard the tissue formed of long vessels as the path of the most rapid part of the transpiration current when the plant has an abundant supply of water, while the tracheids transmit the slowly moving water and continue in function even when supplies are very limited. It is also evident that the small cross section of the tubes, though also introducing resistance, is most essential. In this way each bubble which is formed occupies only an infinitesimal part of the cross-section of the whole water current.

The structure of the walls themselves is also in complete harmony with the tension hypothesis and finds its most natural explanation viewed in the light of that hypothesis.

It has long been recognised that the thickenings found on the walls of the tracheae, viz. the internal supports in the form of annuli, spirals and networks, are of such a nature that they are præeminently suited

to resist crushing forces.¹⁾ Such strengthenings are quite meaningless from the point of view of the imbibition and the various vital hypotheses; and even according to those views which regarded the sap pressed upwards by gas or atmospheric pressure they are needlessly strong. For it has been shown that it is impossible to crush the tubes of a leaf by an external pressure amounting to 30 atmospheres²⁾, when, according to the theories just alluded to, they would be exposed to one atmosphere at most. The presence of these thickenings in the tracheae of the leaves forbids us accepting Elfving's view that they protect the tubes from the pressure of the growing tissues. If needlessly bulky they are disadvantageous because they produce friction and introduce turbulent motion into the upward stream. Ewart finds³⁾ that, owing to the presence of these thickenings and to the transverse walls, the flow of water through the capillary tubes of plants (viz. tracheae) is only about half what we would expect to find calculating the flow by Poiseuille's formula. Consequently for ordinary methods of transference assumed in earlier theories the tracheae of the plant cannot be regarded as very efficient. For the transmission and stability of a tensile stream, however, these thickenings are essential. And their strength, so far from being superfluous, is probably often tested severely in times when the transpiration removes large quantities of water and so develops high tensions in the sap. The whole wall is not thickened uniformly, because the permeability of the thinner parts is essential. The thickenings confer on the thin walls the rigidity necessary to support the tensile stresses in the sap.

It is interesting to find that we often have indications that the unsupported wall would not in itself have sufficient rigidity to bear the crushing forces it is exposed to. These indications are particularly frequent in the protoxylem.⁴⁾ Here commonly, when elongation has widely separated the rings and spirals, the thin part of the walls of the vessels is drawn in as a constriction between the spiral or annular supports, and often the whole vessel is collapsed if the supports have become too oblique. That this is not due to the pressure exerted by the growth of the surrounding tissues follows from the fact that these instances are most frequently found in leaves.

¹⁾ Fr. Elfving, Ueber die Wasserleitung im Holz. Bot. Ztg.; 42. 1882.

²⁾ As appears from the fact that water is pressed backwards from the leaf cells into the branches by pressures about this magnitude. Cf. Report of a Discussion on the Ascent of Water in Trees. Ann. of Bot., Vol. X, Dec. 1898, p. 655. H. H. Dixon, On the Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 28.

³⁾ A. J. Ewart, On the Ascent of Water in Trees (First Paper). Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., Vol. 198, (1905), B, p. 50.

⁴⁾ H. H. Dixon, Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 14.

The most perfect adaptation, to secure the advantages of ease of flow without seriously reducing the rigidity of the tracheae, is to be found in the most general of all the wall-structures, viz., the bordered pit. The membrane and torus of each bordered pit in the conducting tracheae is able to take up three positions — a median position, symmetrically dividing each domed chamber of the pit from the other, and two aspirated or lateral positions. The median position is naturally assumed by the more or less tightly stretched membrane when it is not acted upon by lateral forces. In the aspirated positions the membrane is deflected against one dome or the other, and the torus lies over and fills the opening into the dome. The membranes of pits in the common wall separating two adjacent tracheae filled with water naturally take up the median position. Pappenheim¹⁾ found that an immense rush of water through the pit was needed to deflect the membrane to one side. A moderate flow does not disturb it from its median position. The reason for this is to be found in the fact that the membrane round the torus is very permeable to water and, consequently, water moving at a moderate speed passes through it easily without displacing it.

The normal transpiration current never possesses the velocities which Pappenheim found were necessary to deflect the membrane, and of course hydrostatic tension in the liquid on each side of the membrane will not tend to displace it. Hence it is that the tensile transpiration current, passing from one trachea to another through the bordered pits, experiences only the minimal resistance of the porous and thin membrane. But the very delicacy and porosity of the membrane render it unsuitable for sustaining any severe stress, and so we find, when a bubble develops in a trachea and is gradually distended by the tension in the liquid, or by a difference of gas pressure, till it fills the trachea, the membranes of the pits in the walls of the trachea become aspirated away from the bubble, and the membrane is supported by the dome, while the torus lies over the perforation in the latter like

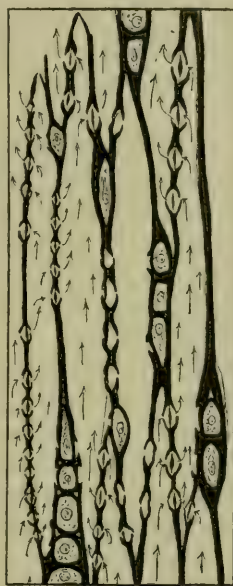


Fig. 5. Diagram to show the position of the pit-membranes when the tensile transpiration current is passing through them, and when a bubble is developed on one side.

¹⁾ K. Pappenheim, Zur Frage der Verschlussfähigkeit der Hoftüpfel im Splintholze der Coniferen. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., VII, 1889, pp. 2 et seq.

a washer or plug (see Fig. 5). In this position of the membrane the tension of the water and the gas pressure are withstood, not by the thin and delicate membrane, but by the surface of the water supported by the denser and more rigid material of the wall and of the torus, while the delicate membrane is shielded from all stress.

Thus from the standpoint of the tension hypothesis we regard the bordered pits as mechanisms to render the walls as permeable as possible to continuous water streams, while, when conditions require they provide, by an automatic change, a rigid support to the tensile sap and oppose an impermeable barrier to undissolved gas.

In the foregoing we have seen that, when water is abstracted from the leaves of plants by evaporation, the properties of water and the conditions in the conducting tracts necessitate that the contained water shall pass into a state of tension. This is always true unless root-pressure or atmospheric pressure or the combined action of both at the time is forcing up water more rapidly than evaporation eliminates it. The structure of the wood makes the fluid stable under the tension and at the same time combines the advantages of very considerable permeability with the great rigidity needed to transmit the stress.

When root-pressure is not vigorous the tensile stress of the sap must be transmitted across the parenchymatous cells of the root terminations to the surfaces of the root hairs. In these cells the actions which occur must be the converse of those occurring in the mesophyll. At the root the entry of water depends on the gradient of pressure as we pass from the outside of the root to the inside of the tracheae. The fall of pressure due to the tension in the water is continuous all the way up the stem to the leaf. Thus we may regard the flow of water up the highest tree as due to the evaporation and condensation produced by the difference between the vapour pressure in the soil spaces and that obtaining round the leaves. The column of tensile water flows under the action of this difference from end to end of the plant.

The relations in these respects of the leaves to the roots may be illustrated ¹⁾ by two porous pots connected hermetically by a glass tube about a metre long, the pots and the tube being completely filled with water (Fig. 6). If one porous pot is immersed in damp earth and the other supported above it, it will be found that the difference in the state of saturation of the spaces surrounding each

¹⁾ H. H. Dixon, On the Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 20.

will be sufficient to cause condensation to take place on the surface of the lower pot while evaporation proceeds from the surface of the upper one. Motion of the water upwards in the tube may be demonstrated by the introduction of a mercurial index into the tube. If evaporation from the upper pot eliminates more water than condensation on the lower pot supplies, and if the liquid in the apparatus is in a state capable of standing tension, the stress developed by the reduction of the volume of water will drag in the menisci in the interstices of the walls of both porous pots and make them more concave. This will have a two-fold effect. The rendering of the upper menisci more concave tends to bring them into equilibrium with a lower vapour pressure and consequently reduces evaporation, while the increased concavity of the lower menisci for the same reason renders them more ready to condense water vapour.

When this model has been in action for some time it will be noticed that the lower pot is at a higher temperature than the upper one. This difference of temperature is to be attributed to the 'sorting demon' action progressing at the two surfaces. The lower menisci form a trap for more energetic water vapour molecules in the soil spaces, the upper retain the less energetic while those which are more energetic escape into the surrounding space. Hence there is a gain of heat to the lower menisci and a loss of heat by molecular convection from the upper menisci. This cooling of the upper menisci maintains a constant flow of heat into the evaporating surfaces, which is constantly being abstracted again by the escaping molecules. As they escape fresh ones are drawn into their places from the water beneath by the attractions of those remaining in the meniscus, and these mutual attractions find expression in the tensile strength of the liquid which joins the whole column to the evaporating menisci. Thus the loss of molecules from the menisci, kept up by the inflow of heat, is able, by calling into play the mutual attractions of the water

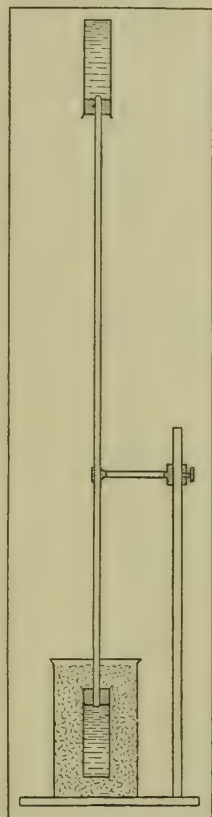


Fig. 6. Model representing the energy relations of the plant to its surroundings, two porous vessels connected by a glass tube. The lower vessel representing the root is plunged in damp earth, the upper one is exposed to the air. The difference in the state of saturation of the surroundings of each causes evaporation from the surface of the upper vessel and condensation on the lower.

molecules, to set up a stress in the water which may be transmitted to the lower menisci.

If we suppose, in order to imitate the conditions in the plant more closely, the outer surfaces of the two pots in the model to be covered with osmotic cells, we can readily see that the conditions are not essentially altered. The osmotic pressure in these cells need not change the gradients of pressure in the water. The osmotic pressure is the pressure which the dissolved substance exerts against the membranes of the cells, while the tension is in the solvent and is transmitted unaltered across the space in which the pressure of the solutes is also exerted.

In this respect the osmotic pressure acts just in the same way as a number of internal supports keeping the cell turgid and preventing it from collapsing under the tension of the solvent which drags the water across the cell.

The gradient of pressure which causes the passage of water from the soil into the root may be referable, as we have seen, to the concave menisci formed in the cell walls of the root surface due to the tension in the sap. In times of root pressure the gradient of pressures is probably maintained by the osmotic properties of the solutions in the root. High osmotic pressures in the cells of the root will not lead to the entry of water unless the cells are at the moment in a depleted condition so far as water is concerned. In that case water will continue to stream into the cells until a state of turgor is restored and the cell wall becomes tense, in a manner strictly comparable to the restoration of turgor in a leaf cell, already considered. But supposing the absorbing cells to be turgid, as they usually are, then the entry of water and its passage across these cells may be determined by the presence of an osmotic solution in the root tracheae. As long as the solution in these tubes is so concentrated as to produce a lower vapour pressure within them than exists in the surrounding soil, a flow across the absorbing cells will evidently be determined and water will accumulate in the tracheae. The water will continue to rise upwards until the dilution is such that the dissolved substances can only generate a force equal to the back pressure. Whether the phenomenon of bleeding from intact leaves can be explained in the same way is open to question, but the presence of large amounts of dissolved substances in the sap exuded by-root pressure seems to render the above the most rational explanation. However produced the occurrence of root-pressure is of great importance in the tensile hypothesis, as it periodically flushes the conducting tracts with water under pressure and so must bring into solution the bubbles which have arisen in time of high tension. This action

renders the water column continuous across tracheae, which had been put out of action by the development of bubbles.

Again the gradient of pressure which determines the flow of water into the root may be maintained in part or even very largely by atmospheric pressure. This can only act when absorbing cells are surrounded by liquid water which the atmospheric pressure may force through the tissues of the plant. When, however, the liquid surface is moved into the cell-walls atmospheric pressure ceases to be effective, as it is then withstood by the menisci formed in the walls and can urge the water no further.

The effectiveness of atmospheric pressure when the roots are surrounded with water has been experimentally demonstrated by Vesque.¹⁾ Curiously enough he found that the increase in the rate of upward movement was less marked when the roots of herbaceous plants were exposed to external pressure than when the subject of experiment was a shrubby plant.

When root-pressure and atmospheric pressure are unable to advance water upwards to the evaporating cells sufficiently quickly to make good evaporation losses, then it is evident that the tension in the water of the plant rises. This tension is either sustained by the menisci in the absorbing cell-walls of the root or, if water is present on the outer sides of the cells, it is transmitted through the walls, and causes a flow of water inwards.

It is interesting to consider the behaviour of the water in the soil when acted upon by the absorption of the plant and to compare it with that of the water in the conducting tracts.

Whenever the root hairs come into contact with liquid water its entry will be determined by the sum of the effects of (1) the tension in the sap, transmitted from the leaves, (2) the osmotic pressure of the solutions in the tracheae and (3) atmospheric pressure acting on the water in the soil round the roots. The first two are of the nature of a drag or traction on the water while the third is a *vis a tergo*.

It might be thought — as Böhm suggested²⁾ — that when the first two forces draw more water into the root than is being constantly pressed forward by the atmosphere, that the water in the soil would pass into a tensile state. Only the very feeblest tensions can exist in this way in the soil water. For it does not fully occupy any rigid envelope which would be able to prevent the water changing its

¹⁾ J. Vesque, Recherches sur le mouvement de la sève ascendante. Ann. d. Sci. Nat. Bot., XIX, 1884, pp. 157 et seq.

²⁾ J. Böhm, Capillarität und Saftsteigen. Ber. d. Deutsch. Gesell., XI, 1893, pp. 203 et seq.

volume, and so eluding the tensile condition by means of its mobility. The tensions developed are limited to the capillary forces of the interstices of the soil which, except in very fine grained soils, will be insignificant. To view the matter in another way, the soil, lacking the compartmented structure of the water ways of plants, cannot put an effective limit on the size of the bubbles, which are consequently free to expand indefinitely and so render high tensions impossible.

In dry weather, when there is but little water in the soil, it is probable that a large percentage of water enters the root by condensation in the walls. For the water surface in the walls will possess, owing to the concavity of its menisci, as explained, a lower vapour tension than the water in the soil.

This condensation¹⁾ on the root surface appears to be a much more satisfactory explanation of the absorption of water from comparatively dry soils, than the generally accepted one which was first offered by Sachs.²⁾ According to this physiologist the particles of soil may be regarded as surrounded by concentric envelopes of water, the outer envelopes being more mobile than those close to the particles. When a root hair draws off a quantity of water from the mobile envelopes which are adjacent to it, the loss is made good by a flow from the outer envelopes of all the other particles in the neighbourhood of the root hair.

Sachs' diagram representing the surroundings of a root hair in the soil shows the latter as consisting of grains of sand, water and air bubbles. In such a configuration the most natural course of events would be as follows: The root hair would drink in water from the interstice in which it found itself, and so, by diminishing the amount of water, would enlarge the bubbles in its neighbourhood. The result of this would be to diminish their surface tension forces owing to the increased radius of curvature of their surfaces, and the further drawing off of water would lead to a continual thinning out of the films of water covering the particles.

Even when there are large quantities of water in the soil it may be shown that the aqueous envelope covering the clay particles is very thin. Thus soils containing 30 per cent of their weight of water may be regarded as wet soils, for few soils can retain as much as 50 per cent. If we assume the mean diameter of the particles to be about the same as the diameter of a root hair, which is about the relation in Sachs' diagram referred to above, and if, for the sake of estimating the thickness of the envelopes, we regard the

¹⁾ H. H. Dixon, *Physics of the Transpiration Current*. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, p. 22.

²⁾ J. von Sachs, *Lectures on Plant Physiology*. Trans. by H. Marshall Ward.

particles as spheres, the radii of which will equal 0.01 mm; if r = radius of the particle and R = radius of the envelope, we have $\frac{4\pi}{3} R^3$ = volume of the sphere formed by the particle and its envelope and $\frac{4\pi}{3} r^3$ = the volume of the particle.

Since there is 30 per cent weight of water present in the soil this will amount to about 60 per cent by volume, as the specific gravity of the particles may be taken about 2. Therefore

$$\begin{aligned}\frac{4\pi}{3} R^3 &= \frac{4\pi}{3} r^3 + \frac{60}{100} \times \frac{4\pi}{3} r^3 \\ R^3 &= (1 + 0.6) r^3 = 1.6 \times (10^{-2})^3 \\ R &= 1.17 \times 10^{-2} = 0.0117\end{aligned}$$

Thickness of envelope = $R - r = 0.0017$ mm.

But since the particles are not quite spherical their surface will be greater and consequently the envelopes will be thinner than appears from this estimation.

In a film of this thickness, not much thicker than the cell wall of the root hair, motion could be but very slow, and of course not being supported in any way it cannot transmit tension.

We must next consider the amount of energy needed to raise the transpiration current as a tensile stream in the wood and ascertain how far the sources available suffice to do the work.

The work done will be equal to the weight of the water raised from the soil to the leaves, together with the energy expended in overcoming the resistance of the conducting tracts. The available energy is to be found in the energy entering at the evaporating surfaces supported in the cell-walls of the leaves. The surface of the liquid is held there by the capillary forces developed in the sub-microscopic spaces in the substance of the walls, and may be compared to an evaporating surface (composed of innumerable menisci) in porous clay.

The suitability of evaporating menisci as a mechanism for doing work may be illustrated by a model.¹⁾ See Fig. 7. A light fly wheel is delicately hung in an air-tight chamber. The short limb of a J-shaped glass-tube enters the upper part of this chamber from above, and its end, which is drawn to a fine nozzle, is vertically over the edge of the wheel. The longer limb of the tube dips into a well of water

¹⁾ H. H. Dixon, On the Physics of the Transpiration Current. Notes from the Botanical School, Trinity College, Dublin, No. 2, 1897, pp. 16 et seq.

formed by a glass vessel beneath the chamber. In the lower part of the chamber, beneath the wheel, is a small cistern also containing water and from this cistern leads a branching tube which distributes the water to twelve porous pots, some of which are seen in the background.

Evaporation from the surface of the pots removes the water from the cistern. This diminishes the air pressure in the air-tight chamber, and the atmosphere, pressing on the surface of the water in

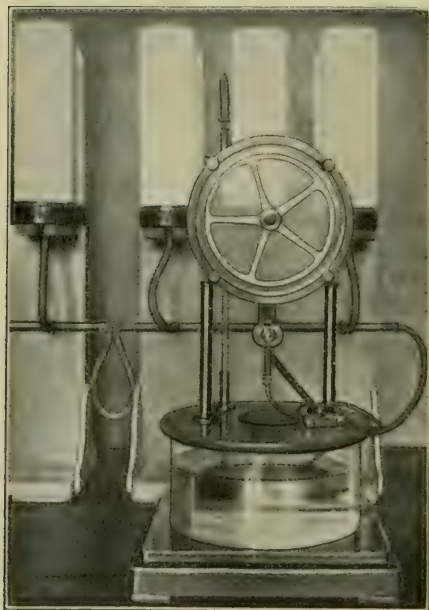


Fig. 7. Model to illustrate how the energy entering at evaporating menisci may be utilised in doing work.

the well beneath, urges water up the glass tube and through the fine nozzle. A series of drops is thus delivered on the edge of the wheel, and keeps it in constant rotation as long as there is water in the well beneath. In order to prevent the drops running round the edge of the wheel, this latter is covered with a thin coating of paraffin wax. By this means the drops remain fixed on the edge of the wheel just like the bucketfuls of water on the rim of an overshot wheel. Lest the drops should not readily detach themselves immediately on reaching their lowest position on the edge of the wheel, a camel's hair brush, projecting out of the water in the cistern, is brought sufficiently close to the wheel to be able to drink the drops off its edge.

The arrangements adopted in setting up this model are shown in the accompanying illustration. The pots used were 16 cm in length, and 5 cms in diameter and thus the twelve expose a total effective evaporating surface of 3200 sq. cm. With these arrangements the wheel might be kept in rotation apparently for an indefinite time, were it not that the paraffin surface on the edge of the wheel ceases to preserve its water-repellent character after a certain amount of wear, and then the drops from the nozzle run down round the wheel without causing its rotation. Notwithstanding this, the wheel may be easily kept in rotation for several days.

When the pots are replaced by a leafy branch the wheel is kept in lively rotation by the evaporation from the leaves. Variations in the speed of rotation of the wheel mark the variations in the amount of evaporation from the leaves. Thus, exposure to a draught or to a higher temperature, as in the case of the pots, accelerates the rate of rotation. In addition to this the influence of light upon the stomata may be observed in the increased rate by day; while conversely darkness diminishes the rate of rotation.

It is interesting to trace in this model how the molar work of maintaining the wheel in rotation is derived from the molecular action at the evaporating surface. The molecules of the liquid with most *vis viva* emerge from the superficial layers of the liquid and, escaping by reason of their momentum from the attractions of their fellows, dash into the adjacent unsaturated space. Those with less energy cannot free themselves from the bonds of their neighbours and, if they get beyond the surface at all, they must needs fall back again into the body of the liquid. In this manner from the surface of an evaporating liquid there is a constant sorting out of those molecules which possess the greatest amount of energy, while those with less remain behind. In consequence of this selective action the unevaporated liquid, being composed of those which possess least energy, is maintained at a lower temperature, and therefore heat continues to flow into it from its surroundings. It becomes in fact a sink of energy. The heat, which is continually entering at the evaporating surface prevents the liquid under ordinary conditions falling to a temperature much below that of the surrounding objects and so increases the *vis viva* of the remaining molecules and enables evaporation to continue. This inflow of heat at the seat of evaporation is the ultimate source of the energy which raises the water to turn the wheel. This is true both for the evaporating surfaces of the porous pots and those of the leaves.

In the model the evaporating menisci do work raising the water which in its passage turns the wheel; in an intact plant the work is done against the weight of the tensile transpiration stream and the resistance of the conducting tracts. The capillary forces of the menisci serve to hold the upper surface of the water in position whilst the inflowing heat, by disconnecting and removing molecules in these menisci, tends to shorten the water columns. The bonds cast off by the escaping molecules are transferred to others within the liquid which are thus drawn to the menisci, and the tension is generated and maintained in the liquid. It is clear that the capillary forces of the menisci must be sufficiently great to support the tension needed to raise the water, and hence the fine grain of the walls of the transpiring cells forms an essential link in the mechanism which

utilizes the energy entering at the evaporating surfaces in the leaves.¹⁾

Direct measurements give the weight of the water transpired and the height through which it is raised. There is considerably more uncertainty with regard to the work done in order to overcome the resistance opposed to the transpiration current. But several attempts have been made to approximate to it.

Janse's²⁾ method was to find the head of water required to drive water through a branch at the same rate as the transpiration current. He measured the transpiration current by determining the loss of weight in a given time of the same branch when severed from the tree, or else by determining the amount of water abstracted by the branch from a weighed vessel in a given time.

He gives as his results that the head of water required to produce a flow equal to the transpiration stream equals 2—21 times the length of the wood traversed.

Strasburger³⁾ used the second method of estimating the transpiration rate. He states that in the case of the conifers, *Taxus* and *Tsuga*, a head equal to several times the length traversed was required. In the case of plants with vessels a much smaller resistance was obtained, and he found that a head of 12 cm was able to drive water at the transpiration rate through 10 cm of *Acacia floribunda*.

Ewart⁴⁾ has also made experiments on this subject. Using the same method as Strasburger he found that the head required to urge water through the conducting tracts amounted to 6—33 times the length of stem traversed.

A second method for determining the maximal transpiration was used by the last investigator. A branch bearing a small number of

¹⁾ It should be noticed that, while the point of support for the tensile water, in the case of dead organs which continue to transpire, is always the menisci in the cell-walls, yet it is quite possible that these menisci may never or seldom be called into play in living leaves. The presence of soluble substances on the outer surface of the cell-wall would perform the same function in supporting the evaporating surface as the submicroscopic capillaries, or, again, the excretion of clean water on the outside of the cells might replace these menisci. Some process of this nature is rendered probable by the fact that the water surface retreats from the outer cell-walls after death, as is evidenced by the drying of leaves, although watersupplies are available below. Cf. J. Joly in a Report of a Discussion on the Ascent of Water in Trees. *Ann. of Bot.*, Dec. 1896, p. 651 and H. H. Dixon, *Physics of the Transpiration Current*. Loc. cit., pp. 35 et seq.

²⁾ J. M. Janse, *Die Mitwirkung der Markstrahlen bei der Wasserbewegung im Holz*. *Jahrb. f. Wiss. Bot.*, XVIII, 1887, pp. 1 et seq.

³⁾ E. Strasburger, *Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen*. Jena 1901.

⁴⁾ A. J. Ewart, *On the Ascent of Water in Trees (First Paper)*. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*

leaves, while still attached to the tree, is led through a split rubber cork into an air-tight glass chamber containing a weighed quantity of calcium chloride. The gain in weight of the latter gives the amount of water transpired by the leaves in a given time. Assuming then, that all the leaves of the tree act like those in the glass chamber, the number of leaves on the whole tree will give the total weight of water transpired and consequently the amount of water which passes up the tree in a given time. Finally by measuring the effective cross section of the trunk, the velocity of the transpiration current may be estimated.

The results obtained by these investigators vary between wide limits. A head equal to from 1—33 times the length of the traversed stem is needed to produce the maximal transpiration rate. For many reasons, however, the average is to be regarded as greatly excessive.¹⁾

The velocities indicated by these experiments must be greater than those actually obtaining in intact trees. In the experiments the same lifting forces are developed in the leaves but they have to lift only a very short column of water and to overcome the resistance of only a short piece of stem, consequently the rate must be increased.

In Janse's first method for obtaining the amount of transpiration — successive weighings of a severed branch — towards the end of the experiment the true transpiration rate may be more closely approximated to, but the exposure of the opened conducting tracts allows air gradually to enter and clog the tracheae. Consequently when the resistance comes to be measured later on it will be found to be excessive.

Ewart's method is also exaggerative. The small desiccated branch will be able to draw off water from the supplies in the stem much more readily than if all the branches were transpiring at the same abnormal rate. Consequently it is not justifiable to assume that the rate, at which water is given off by an isolated branch under conditions of exceptional desiccation and supply, is ever attained by all the branches when all alike are exposed to conditions most favourable to evaporation.

But the gravest errors seem to have been introduced in determining the head required to produce a given rate of flow. This is due to the fact that in the experiments high pressures were used and rapid flows attained. It is evident that the rapid currents produced will tend to sweep every contamination on to the cut surface and so clog the tracheae. Exudations from the cut cells form an

¹⁾ H. H. Dixon, On the Transpiration Current in Plants. Proc. Roy. Soc. Lond., B, Vol. 79. 1907.

unavoidable source of contamination. An excessive estimate of the resistance will be the result.

By using much lower pressures the author has obtained much smaller values for the resistance. Thus it was found that a head equal to the length of stem traversed produced a flow in the wood of *Taxus baccata* of 7.6 cm per hour. The maximal velocity of the transpiration current in the year obtained by Ewart's method is 7 cm per hour. As we have seen this estimate is probably excessive.

We are justified then in assuming that the resistance which must be overcome in moving the transpiration current through the stems of trees will not be much more than equivalent to a head of water equal in length to the stem.¹⁾

With this figure we are in a position to find out approximately the amount of energy required to raise the transpiration current in trees. Each cubic centimetre of water given off from the leaves of a tree 100 m high requires an expenditure of work to the extent of 100×100 gramme centimetres to lift it, and, as we have seen, about the same quantity of work to overcome the resistance of the conducting tracts; this makes a total of 2×10^4 gr. cms = $\frac{2 \times 10^4}{428 \times 10^2}$ cal. = 0.5 cal. for transporting in the conducting tracts one cubic centimetre from the roots to the leaves of a 100 m tree.

To evaporate a cubic centimetre of water at 20° C requires 592.5 Cal. Therefore the work done in transporting the water from the roots to the leaves of a 100 m tree will not require more than the one thousandth part of the energy required for the evaporation of the water. Hence to obtain the energy needed to raise the water in a 100 m tree the amount evaporated will only be diminished by one thousandth part. Even taking the highest and certainly excessive estimate of the resistance, the amount evaporated will only be reduced by $\frac{1}{30}$; if, in addition to evaporation, the energy absorbed by the leaf has to do the work of transporting the water from the roots.

We have seen that the osmotic forces of the cells of the leaves are not as a rule called upon to supply any of the energy needed in raising water, but the stress set up by evaporation from their cell-walls is transmitted across them. This stress exists in the solvent while the osmotic pressure is exerted by the dissolved substances acting against the protoplasmic membranes. It is clear that, if the stress continues greater than the osmotic pressure, the water contents of the cells will be reduced, the cells will lose their turgor, and the leaf will fade. As long as the leaves are turgid the osmotic pressure of the cells must be as great as, or greater than, the tension in the

¹⁾ H. H. Dixon, On the Transpiration Current in Plants. Loc. cit.

sap. If greater, the surplus pressure will be taken up by the tension or stress in the cell-walls (vide page 7).

Few determinations have been made of the osmotic pressures of leaf-cells of plants and none, so far as I am aware, of those of high trees.

W. T. Sutherst, quoted by B. E. Livingston¹), determined (1901) the freezing points of the juices of different leaves, and from these the osmotic pressures can be derived:

Leaf	Freezing point	Osmotic pressure
Vegetable marrow	-0.75°	9 atm.
Celery	-1.4°	15 "
Carrot	-1.2°	14.5 "
Cabbage	-1.1°	13.3 "

These figures agree fairly well with results obtained by the author in 1896 using a completely different method. According to the writer's method a small leafy branch is enclosed hermetically in a very strong glass cylinder. The end of the branch projects below and is supplied with water. Air can be forced into the cylinder through a narrow pressure-tube. A suitably arranged manometer indicates the air pressure in the cylinder. Calcium chloride exposed in the cylinder prevents the air becoming saturated with water vapour coming from the leaves.

As one raises the pressure in the cylinder, at first the leaves remain quite normal, and it may be shown by weighing the vessel of supply that the branch continues to draw up water against very considerable pressures and the cells remain turgid. The subjects of these experiments were *Helianthus multiflorus*, *Acer macrophyllum*, *Crataegus oxyacantha*, *Cytisus Laburnum*, *Tilia americana*. None of these lost turgidity when surrounded by air pressures up to 8 atmospheres. First against a pressure of 15 atm. did some of the leaves fail to lift water, and in some cases a small amount was forced back from the branch into the weighed vessel below. The leaves of most however did not give in at 15 atmospheres. It required an external pressure of 20 atmospheres to force the leaves of fresh branches of *Cytisus Laburnum* and *Tilia americana* to disgorge water. At this pressure the leaves of *Helianthus* assume a dull appearance, roll up at the edges and slowly crumple. The petiole bends downwards and soon the whole leaf presents the appearance of one which has faded for want of water. These appearances are presented by the leaves of *Cytisus* and

¹) B. E. Livingston, The Rôle of Diffusion and Osmotic Pressure in Plants. Chicago 1903, p. 85.

Tilia first at a pressure of 26—30 atmospheres. In many cases after the collapse of the leaf has been brought about by raising the pressure in the cylinder surrounding the branch, the turgor of the cells may be restored by reducing the pressure once more.

It has been stated that this method of obtaining an estimate of the osmotic pressures in the cells is not above criticism¹); but no definite objections have been formulated against it. A detailed discussion of the method would have been more helpful. It is difficult to see what is the cause of the collapse of the leaf if it is not the loss of turgescence of the cells. A cell lying next a trachea is exposed to the high pressure on all sides except on that forming the common wall with the trachea. The water in the trachea is continuous with that in the vessel below and is at atmospheric pressure. At first the osmotic pressure of the cell under consideration is able to resist the high air pressure in the cylinder and prevents water being squeezed back into the trachea. When the osmotic pressure is overcome, water is crushed out of the cell into the trachea, and the cell loses turgidity. This leads to a concentration of the solution in the cell, and it becomes able to withstand a higher pressure and consequently it ceases to collapse. Then cells having a lower osmotic pressure lose water and the same sequence of events is repeated. When a number of the mesophyll cells are thus robbed of water and lose turgor the leaf assumes a dull appearance. In this experiment the osmotic forces of the cells are balanced against air pressure, just as, in the ordinary determinations of osmotic pressure, the osmotic pressure is balanced against the head of a liquid column.

The method is certainly preferable to the plasmolytic treatment of fragments cut from leaves. In the preparation of these pieces such violent stimuli have been inflicted on the leaves that their osmotic properties may have been entirely altered, and the subsequent determination of osmotic pressure probably gives quite erroneous estimates of the osmotic pressures in the transpiring leaf.

The osmotic pressures determined by Sutherst for the leaves of some herbaceous plants ranging, between 9 and 15 atm. and by the author for some trees ranging from 15 to 30 atm., are quite in harmony with the tension theory. These pressures are ample to keep the cells distended against the tension developed in the solvent and so maintain the turgidity of the leaf during transpiration.

To take for example a tree 100 m high: The tension developed in its upper tracheae, to support the weight of the water-column and to overcome the resistance to the flow, would not be more than

¹) L. Jost, Lectures in Plant Physiology. Eng. Trans. by R. J. Harvey Gibson. Oxford 1907.

20 atm., even if we assume transpiration to be as fast as in lower trees; for we have seen that the pressure required to drive water through a stem at the transpiration rate is not more than that exerted by a column of water equal to the length of the stem traversed. When we find osmotic pressures as great as 26–30 atm. in low trees like *Cytisus* and *Tilia*, we may, in the absence of direct observation, credit the leaves of higher trees with at least as great pressures.

It will be convenient here to notice some of the objections which have been raised by assailants of the Tension Theory of the Ascent of Sap.

1. It has been objected that, although the physical possibility of hanging water-columns in the plant has been demonstrated, yet it has not been shown that sufficient quantities of water to cover transpiration can be transported upwards by the tension developed. Ewart believed that the resistance opposed by the water tracts proved the forces developed in the leaves insufficient to do the work and the tensile strength of water too small to transmit the stress required. Firstly with regard to the energy; the results quoted above show that the energy absorbed by the leaves is several hundred times more than would be required to raise the water in the highest trees in addition to overcoming the resistance of their conducting tissues. Even if we accept the maximum estimate of the resistance, which we have already learnt is certainly much too great, yet the energy absorbed by the leaves is more than sufficient.

Nor does the tensile strength of water forbid the application of the theory to the highest trees. We have shown reasons to believe that the greatest stresses developed in trees 100–150 m high would not exceed 20–30 atmospheres. The tensile strength of water has been experimentally shown to exceed 150 atmospheres. This tenacity was proved in samples of water saturated with air. Consequently we need anticipate no difficulty from the fact that the transpiration stream contains dissolved air.

To set at rest a fear raised by Steinbrinck¹⁾ as to the adequacy of the tenacity of the water columns in case of a rise of temperature, it may be pointed out that the tensile strength of more than 150 atmospheres was demonstrated over a range of temperature from 25° C to 80° C. Temperatures above the latter will not occur in living trees.

¹⁾ C. Steinbrinck, Zur Cohäsionstheorie des Saftsteigen. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesell., 1904, Bd. XXII, 8, p. 529.

With these facts before us it is evident that the theory of the tensile sap not only accounts for the rise of water in trees, but also for its rise in sufficient quantities.¹⁾

2. The greatest misunderstandings have arisen with regard to the necessity of continuous water-columns. It has been already pointed out that, owing to the permeability of the woody walls, the water in the wood of plants does form a continuous system which the fortuitously placed bubbles are powerless to sever. This fact forbids us, as Jost²⁾ points out, to rigidly compare the water in the wood to a column in a glass-tube, but the permeability of the walls secures the continuity on which, strangely enough, Jost casts doubt. It is by no means necessary for the transmission of tension that the water should be continuous in vertical series of tracheae. If one or more in such a series contains air, the tension is transmitted in the tracheae filled with water around those which contain air. The continuity of the tensile water is not destroyed but its form is rendered more tortuous. How devious may be the upward course of the water without destroying the transpiration supply is shown by incision experiments such as those carried out by Strasburger.³⁾

3. The observation of motion in water beside bubbles occupying tracheae or other tubes has been responsible for the perfectly unwarrantable suggestion that this motion takes place past all the bubbles in the transpiration stream. The streaming of water past bubbles has, so far as is recorded⁴⁾, been observed only at small heights above the water supply. In these cases the surface tension forces of the bubbles have been sufficient to resist the forces tending to distend the bubbles, and when evaporation takes place above, atmospheric pressure shoves a stream past the bubbles which lie quite passive in the stream. The water in these cases ascends past the bubbles in just the same way as oil rises in a wick past the innumerable menisci formed on its sides.

The motion past the bubbles in the plant in this manner can only take place in the lower parts and when the action of root pressure or of atmospheric pressure is lifting the transpiration stream. For the tension set up at the evaporating surfaces could not be transmitted in this film.

¹⁾ L. Jost, *Lectures on Plant Physiology*. Eng. trans. by R. J. Harvey Gibson. Oxford 1907, p. 72.

²⁾ L. Jost, *loc. cit.*, p. 72.

³⁾ Ed. Strasburger, *Ueber den Bau und Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen*. Jena 1901, pp. 599 et seq.

⁴⁾ J. Vesque, *Observation direct du mouvement de l'eau dans les vaisseaux des Plantes*. *Ann. des Sci. Nat. Bot.*, VI. Ser., Tome 15, 1882, pp. 5 et seq. *Idem*, *Sur l'interprétation d'une expérience de Hales concernant le rôle des vaisseaux*. *Comptes rendus*, 97, 1883, p. 1085. Ed. Strasburger, *loc. cit.*, pp. 697 et seq.

4. Pfeffer strangely enough urges as an objection "that the walls of the tracheae can absorb or give off water with equal readiness, and that the negative pressure exerted by a continuous water-column would tend to cause an inward and downward stream of water in the upper parts at least".¹⁾ This objection is endorsed by Steinbrinck.²⁾ As is well known this surmise has been frequently shown to be exactly in accordance with fact. When the upper or any tracheae are exposed and supplied with water, the lower transpiring organs determine a flow towards themselves from the point of supply downwards through the upper tracheae. This experience constitutes one of the many arguments against polarity and pumping actions in the stem and at the same time is confirmatory, as this objection strikingly shows, of the tension theory. — When there is no supply of liquid water afforded to the exposed tracheae, menisci are developed at the water-surfaces in their walls. These menisci support the tension in the water and if the tension is sufficiently great and the external state of saturation suitable, condensation must take place upon them and a flow of condensed water from the exposed tracheae into the plant be determined.

5. Steinbrinck³⁾ express another doubt, viz., that the motion of the water in the conducting tubes might render it tensilely weak. He thinks that possibly in experiments, in which considerable tensions have been developed in, and successfully withstood by water, the water particles have been at rest, and that movement of any kind would have destroyed their cohesion. In the author's experiments even at the highest tensions the relative motion of the parts of the tensile water was frequently demonstrated by the motion of the enclosed pieces of wood downwards in the water. This motion never determined the rupture of the tensile fluid. Nor would such a result be expected.

Shortly after the publication of the tensile theory of the ascent of sap the late Dr. E. Askenasy⁴⁾ published a paper assigning great importance to the cohesion of water in the transpiration current. Coming at a time when Botanists were beginning to recognise the cohesive properties of water this paper called attention to a point of view

¹⁾ W. Pfeffer, *The Physiology of Plants*. Eng. Trans. by A. J. Ewart, Oxford 1900, Vol. 1 p. 224.

²⁾ C. Steinbrinck, *Ueber dynamische Wirkungen innerer Spannungsdifferenzen von Flüssigkeiten und ihre Beziehung zum Saftsteigeproblem der Bäume*. *Flora*, Bd. 93, 1904, p. 127.

³⁾ C. Steinbrinck, *loc. cit.*

⁴⁾ E. Askenasy, *Ueber das Saftsteigen*. *Verh. d. Naturhist.-Med. Vereins zu Heidelberg*, N. F., Bd. V. 1895. *Idem*, *Beiträge zur Erklärung des Saftsteigens*. *Loc. cit.* 1896.

which, so far as the writer can understand, does not differ essentially from that advocated by Quincke and Böhm. Underlying Askenasy's account is the same fallacy which invalidates these authors' views, viz. that the tension can be transmitted in the water between bubbles of considerable size and the walls. He appealed¹⁾ to hypothetical adhesive properties of the imbibed walls to explain how a layer of water might be held between the bubbles and the walls, and he assumed that the tension would be transmitted in this layer. It is evident, however, that no advantage can be obtained by increasing the range of the adhesive forces between the water and the walls. In view of the mobility of water such a hypothetical attraction between the comparatively far removed water particles and the walls would increase the tendency of the films round the bubbles to thin out, and all the more preclude the transmission of tension between the bubble and the wall of the containing trachea. Askenasy experimentally produced tension in water by evaporation from porous clay, in the same way as Böhm did, by the evaporation from the leaves of a plant. He assigned a similar rôle to the surface tension forces in the cell-walls of the evaporating cells as was assigned by the authors of the theory of the Tensile Transpiration Current.

¹⁾ E. Askenasy, Ueber das Saftsteigen. Loc. cit., p. 19.

Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern.

Von

E. Zacharias.

Einleitung.

„Ehe man es versucht (sagt Kossel¹⁾), in das Wesen der chemischen Prozesse einzudringen, welche sich in der Zelle abspielen, muß man die Substanzen kennen lernen, welche bei diesen Reaktionen in Betracht kommen. Der chemischen Physiologie der Zelle muß eine chemische Beschreibung voraufgehen. Die chemische Beschreibung der Zelle hat sich nicht darauf zu beschränken, daß sie die Bestandteile derselben aufzählt, ihre Eigenschaften und ihre chemische Konstitution klarlegt. Nicht minder wichtig ist es, die Verteilung der Stoffe in der Zelle, die Beziehung der chemischen Bestandteile zu den anatomischen Elementen zu kennen.“

Die vorliegende Darstellung soll sich mit der Entwicklungsgeschichte und dem gegenwärtigen Stande der Kenntnisse auf dem Gebiete der chemischen Beschreibung von Protoplasma und Zellkern beschäftigen und dabei die Pflanzenzelle wesentlich berücksichtigen. Da aber das geringe Maß von Kenntnissen, welches hier vorhanden ist, auf Grundlage chemischer Arbeiten, welche hauptsächlich die tierische Zelle betrafen, gewonnen worden ist, so wird auch letztere zu berücksichtigen sein.

Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern soll hier insoweit behandelt werden, als für deren Beurteilung in den vorliegenden Arbeiten über Eiweißkörper (im weitesten Sinne des

¹⁾ Kossel, Über die Lymphzellen. (Deutsche medizinische Wochenschrift, 1894, Nr. 7.) Vgl. auch Kossel, Die Probleme der Biologie. (Akademische Rede. Heidelberg 1908.)

des Wortes) eine gewisse Grundlage gegeben ist. Es wird im allgemeinen abgesehen werden von einer Berücksichtigung der „Lipidstoffe“, über deren Verteilung in der Zelle weitere Untersuchungen abzuwarten sind.¹⁾ Ferner soll abgesehen werden von einer Behandlung der Einschlüsse und Ausscheidungen des Protoplasma, den „ergastischen Gebilden“ Arthur Meyer's.²⁾ Daß ein Streben nach scharfer Abgrenzung dieser Gebilde von anderen Bestandteilen des Protoplasmas vielfach auf Schwierigkeiten stößt, ist übrigens selbstverständlich.

Der Versuch, die einzelnen Angaben vollständig zu sammeln, welche in der Literatur zerstreut vorkommen, ist aus naheliegenden Gründen nicht unternommen worden. Es besteht überhaupt nicht die Absicht, hier ein „Sammelreferat“, eine vollständige Literaturaufzählung zu geben, sondern vielmehr einige wesentliche Züge der Geschichte des Gegenstandes zu zeichnen und einen Beitrag zu leisten für die Präzisierung von Fragen, deren Bearbeitung Fortschritte erhoffen läßt.³⁾

An einzelnen Stellen sind auch anderweitig noch nicht publizierte Untersuchungen verwertet worden.

I. Makrochemische Arbeiten über die Eiweißkörper der Zelle.

Obwohl schon die ältere Literatur manche makrochemischen und mikrochemischen Angaben über Protoplasma und Zellkern enthält⁴⁾, so haben doch erst die Arbeiten von Miescher durch ihre Verbindung makro- und mikrochemischer Forschungsmethoden den Anstoß zu nachhaltigem Vordringen gegeben.

„Ich verfolgte, schreibt Miescher an Hoppe-Seyler⁵⁾, von Anfang an die Aufgabe, zu zeigen, daß die Histologie, wenn es sich einmal um die Erforschung der Strukturelemente selbst, nicht nur

¹⁾ Ivar Bang, Biochemie der Zelllipide. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 1907, p. 183.)

²⁾ Arthur Meyer, Plasmaverbindungen und die Membranen von Volvox mit Rücksicht auf die tierischen Zellen. (Botan. Ztg., 1896, p. 212.)

³⁾ Das wichtige Werk Heidenhain's über Plasma und Zelle (Jena 1907) ist u. a. hinsichtlich mancher hier nur einseitig berührter Dinge als eine Quelle ausgiebiger Belehrung zu nennen.

⁴⁾ Vgl. die Literaturzusammenstellung bei E. Zacharias, Über den Zellkern. Botan. Ztg. 1882.

⁵⁾ Die histochemischen und physiologischen Arbeiten von Fr. Miescher. Gesammelt u. herausgegeben von seinen Freunden, Leipzig 1897, 1. Bd., p. 85. Brief an Hoppe-Seyler. 25. Juli 1876.

um ihre anatomische Anordnung handelt, zunächst auf chemischer Basis weiter gebaut werden muß, und zwar nicht bloß mit Gold- und Osmiumfärbungen. Vieles, was nach unwesentlichen (optischen) Eigenschaften auseinander- oder zusammengeworfen wird, muß die Chemie anders gruppieren und auffassen lehren, und ich zweifle nicht daran, daß eine Menge verwickelter Verhältnisse sich dann mit der Zeit vereinfachen, paradoxe Widersprüche sich auflösen werden. Die öffentliche Meinung der Histologen ist aber allen diesen Bestrebungen durchaus nicht geneigt.“ Schon 1871 hatte Miescher seine Untersuchungen über die Eiterzellen publiziert.¹⁾

Miescher suchte die Kerne der Eiterzellen auf zweifachem Wege zu isolieren: Erstmals auf mehr mechanische Weise durch Behandlung der Zellen mit verdünnter Salzsäure und Schütteln mit Äther und Wasser; zweitens durch Extraktion der Zellen mit warmem Alkohol, Verdauung in Schweinemagenextrakt und Auswaschen mit Äther und Wasser. „Auf 100 Teile trockenen (mit S-Korrektion berechneten) in Alkohol unlöslichen Rückstand der Eiterzellen ergaben sich 6,057 Proz. unverdauliche Substanz — auf die gesamten trockenen Eiterzellen berechnet = 3,646 Proz.“

Aus den Kernen löste verdünnte Sodalösung eine Substanz heraus, die auf Zusatz verdünnter Salzsäure eine flockige, im Überschuß der Säure unlösliche Fällung gab. Nach der Extraktion mit Sodalösung blieb noch ein ungelöster Rückstand zurück, in welchem man die Konturen der Kerne mit ihren Nucleolis undeutlich erkennen konnte. Der Rest war löslich in konzentrierter Salzsäure und kaustischem Alkali. Diese in Sodalösung löslichen und unlöslichen Anteile der Kerne unterschied Miescher als „lösliches und unlösliches Nuklein“.

Vom löslichen Nuklein wurde nur eine N-Bestimmung gemacht, sie ergab: 13,47 N. Im übrigen wurden nur die ganzen Kerne analysiert. Sie enthielten: 14,60—13,97 Proz. N, 1,78 Proz. S, 5,76 bis 5,96 Proz. P.

Miescher schloß aus seinen Befunden, daß ein „Körper sui generis, mit keiner jetzt bekannten Gruppe vergleichbar“, vorliege.

Auch Hoppe-Seyler²⁾ untersuchte die Eiterzellen und gewann eine dem Nuklein Miescher's entsprechende Substanz, indem er „die Eiterkörperchen durch Waschen mit verdünnter Glaubersalzlösung isolierte, mit sehr verdünnter Salzsäure und viel Wasser auswusch, dann das Nuklein in Wasser, dem etwas Soda oder Ätznatron-

¹⁾ Miescher, Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. (Medizinisch-chemische Untersuchungen aus dem Laboratorium für angewandte Chemie zu Tübingen. Herausgeg. von Dr. Felix Hoppe-Seyler. IV. Heft. Berlin 1871.)

²⁾ Hoppe-Seyler, Über die chemische Zusammensetzung des Eiters. (Medizinisch-chemische Untersuchungen, 4. Heft, 1871, p. 486.)

lösung zugemischt war, löste, nach dem Filtrieren mit Salzsäure fällte, nochmals in sehr schwacher Lauge löste, mit Salzsäure fällte und nach dem Auswaschen mit Wasser mit heißem absolutem Alkohol auszog, solange dieser noch etwas löste“. Die Analyse der so gewonnenen Substanz ergab:

C	49,58	Proz.
H	7,10	„
N	15,02	„
P	2,28	„

Wässrige Jodlösung färbte die Substanz bräunlich, in Wasser war sie nur wenig quellbar.

Plósz¹⁾ untersuchte die roten Blutkörper von Vögeln und Schlangen.

Aus dem defibrinierten Blut wurden die Blutkörperchen durch Senkung auf Zusatz von 3proz. NaCl-Lösung gewonnen und dann mit Äther und Wasser geschüttelt, wodurch die Kerne von den umhüllenden Zellenteilen befreit wurden. Hierauf wurde die Masse mit verdünnter Salzsäure, heißem Alkohol und Äther gewaschen. Andere Portionen von Blutkörperchen wurden nach der Behandlung mit Wasser und Äther in künstliche Verdauungsflüssigkeit gebracht und unter öfterem Erneuern derselben 40–60 Stunden lang der Einwirkung derselben ausgesetzt, dann mit verdünnter Salzsäure, Alkohol und Äther gewaschen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die auf beiderlei Weise gewonnenen Präparate aus „von den Hüllen befreiten Kernen bestanden“. Die Substanz enthielt 2,4 Proz. Phosphor, war in kohlensauen Alkalien langsam, in Ätzkali leicht löslich, in verdünnten Säuren unlöslich. In den kernlosen Blutkörperchen des Rindes war eine entsprechende Substanz nicht vorhanden.

Einer eingehenden chemischen Untersuchung unterwarf Plósz²⁾ ferner die Leberzellen von Hund und Kaninchen.

Aus totenstarren Lebern wurde durch 0,75proz. NaCl ein bei 45° C koagulierender, in Pepsin löslicher Eiweißkörper und eine bei 70° koagulierende Eiweiß-Nuklein-Verbindung („Nukleoalbumin“) extrahiert. Aus der Lösung konnte das Nuklein durch Pepsin (Pepsin-glyzerin + Salzsäure, so daß das Ganze 2–4 pro mille HCl enthielt) ausgefällt werden.

Durch weitere Extraktion der mit 0,75proz. NaCl erschöpften Lebern durch 10proz. NaCl konnte ein globulinartiger, in Pepsin lös-

¹⁾ Plósz, Über das chemische Verhalten der Kerne der Vogel- und Schlangenblutkörperchen. (Medizinisch-chemische Untersuchungen. Herausgeg. von Hoppe-Seyler. 4. Heft. Berlin 1871.)

²⁾ Plósz, Über die eiweißartigen Substanzen der Leberzellen. (Pflüger's Archiv. 7. Bd. 1873.)

licher Eiweißkörper gewonnen werden. Der Rückstand dieser Extraktion ergab dann bei der Behandlung mit 0,4–1,0proz. Salzsäure weiteres Eiweiß.

Wurde der Kochsalzrückstand ohne vorhergehende Salzsäurebehandlung mit Sodalösung extrahiert, so gingen Eiweiß und Nuklein in Lösung. Das Nuklein konnte durch Säuren ausgefällt werden.

Der Eiweißkörper, der neben dem Nuklein in den durch Kochsalzlösungen erschöpften Zellenresten noch enthalten war, zeigte sich unlöslich in Wasser und Lösungen neutraler Alkalisalze, schwer löslich in der Kälte in verdünnten Säuren und kohlensauren Alkalien, etwas leichter löslich beim Erhitzen mit kohlensaurem Alkali, noch leichter in heißer, sehr verdünnter Säure, sogleich löslich beim Erwärmen mit Natronlauge. Ob dieser Körper in Pepsin löslich sei oder nicht, wird nicht angegeben.

Aus frischen, entbluteten, gefrorenen und zerkleinerten Lebern konnte nach dem Auftauen etwas Flüssigkeit abfiltriert werden, welche bei 45° C koagulierendes Eiweiß und Nuklealbumin enthielt. Durch Auspressen wurde darauf ein Zellenrest abgetrennt, welcher die Reaktionen des schwer löslichen Eiweißkörpers der totenstarren Leberzelle zeigte. Die Masse enthielt aber noch Globulin.

Für die Frage nach der Verteilung der aufgefundenen Substanzen in der Leberzelle sind die folgenden Ausführungen von Interesse: „Wie ich durch mündliche Mitteilung erfahren habe, beobachtete Herr Prof. Kühne schon vor längerer Zeit, daß sich die Leberzelle in ihrem Verhalten gegen Essigsäure von allen anderen Zellen unterscheidet, so daß man die Leberzelle in diesem Verhalten von anderen Zellen unterscheiden kann. Die Kerne werden auf Zusatz von Essigsäure zwar deutlicher sichtbar, schrumpfen aber nicht. Ich untersuchte diese Erscheinung näher und fand, daß die Kerne selbst mit einer Essigsäure von 20 Proz. behandelte Zellen nicht geschrumpft waren. Man kann sie aber zur Schrumpfung bringen, wenn man sie zuerst mit einer NaCl-Lösung von 10 Proz. extrahiert und dann die Säure einwirken läßt. So präparierte Kerne schrumpfen auf Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure gerade so, wie die Kerne der Eiterkörperchen. Ebenso tritt Schrumpfung ein, wenn man die Zellen längere Zeit mit viel sehr verdünnter Salzsäure oder Essigsäure extrahiert. Diese sowie die NaCl-Lösung extrahieren dabei offenbar einen Körper aus dem Kern, der die Schrumpfung verhindert.

Unterwirft man die Leberzelle der Pepsinverdauung, so zerfällt nach einiger Zeit nicht nur der Zellkörper, sondern auch der Kern, und es bleibt das unverdauliche Nuklein in ganz kleinen Körnchen zurück. Es läßt sich hieraus vielleicht der Schluß ziehen, daß im Kern der Leberzellen nicht soviel Nuklein enthalten ist, wie im Kern anderer Zellen, die bei der Verdauung in der sauren Flüssigkeit zwar

schrumpfen, aber doch ganz bleiben, oder daß hier das Nuklein in Verbindung mit anderen Körpern enthalten ist, woraus auch erklärlich wäre, weshalb die Kerne der Leberzellen auf Säurezusatz nicht schrumpfen. Dieselben enthalten neben dem durch die Säure schrumpfenden Nuklein mechanisch gemengt noch andere, wahrscheinlich eiweißartige Bestandteile, oder sie enthalten das Nuklein in einer nicht schrumpfenden chemischen Verbindung.“

Von grundlegender Bedeutung für die Chemie der Zelle waren Miescher's Untersuchungen über die Spermatozoen des Rheinlachs.¹⁾ Miescher zeigte, daß der in heißem Alkohol unlösliche Rückstand, das gewebsbildende Gerüst der Samenzellen der Hauptmasse nach „aus einer unlöslichen, salzartigen Verbindung einer sehr stickstoffreichen, organischen Base (Protamin) mit einem phosphorreichen Nukleinkörper, welcher dabei die Rolle der Säure übernimmt“ (S.-A. p. 17), besteht. Außerdem fand Miescher noch andere, der Eiweißgruppe angehörige Substanzen. Er stellte fest, daß die Nukleinverbindung im Kopfe der Spermatozoen enthalten sei (S.-A. p. 25), und weist darauf hin (S.-A. p. 67), daß „die Zusammensetzung der Spermatozoenköpfe sich in allen Hauptzügen auf das Material von Zellkernen zurückführen“ lasse. Die Darstellung des Protamins und Nukleins geschah folgendermaßen: Zur Gewinnung des Protamins wurde entfettetes Sperma mit 1—2proz. Salzsäure extrahiert, der Säureüberschuß größtenteils abgestumpft und das Protamin als Platinsalmiak gefällt (S.-A. p. 17). Die Nukleindarstellung erfolgte aus dem mit heißem Alkohol erschöpften und mit 1proz. Salzsäure extrahierten Sperma durch Zufügen von Natronlauge und abfiltrieren. Auf dem Filter blieb ein Rückstand, der „neben unlöslich gebliebenem Nuklein beträchtliche Mengen von Albuminstoffen enthielt“. Aus der Lösung in Natronlauge wurde das Nuklein durch Salzsäure ausgefällt, dann mit destilliertem Wasser, Alkohol und Äther behandelt und getrocknet.

Das Nuklein kann (S.-A. p. 30) als eine mindestens vierbasische Säure von der Zusammensetzung: $C_{29}H_{49}N_9P_2O_{22}$ angesehen werden.

Das frisch gefällte Nuklein zeigt folgende Eigenschaften: Es ist amorph, farblos, in Wasser etwas löslich, die Lösung wird durch Säuren getrübt. Leicht löslich ist es in Soda, Ammon, Na_2HPO_4 , nach längerem Stehen jedoch nicht mehr. Die Lösung in rauchender Salzsäure trübt sich, wenn man sofort mit viel Wasser verdünnt, nach einigen Minuten nicht mehr. Jod färbt langsam und schwach gelb. Die Millon'sche Rotfärbung sowie die Färbung mit Kupfersalzen in alkalischer Lösung fehlt vollständig, starke Salpetersäure färbt nicht gelb, löst zur farblosen Flüssigkeit. Das Nuklein zeigt

¹⁾ F. Miescher, Die Spermatozoen einiger Wirbeltiere. Ein Beitrag zur Histochemie. (Verhandlgn. d. naturforschenden Gesellschaft in Basel. VI. Heft. 1874.)

deutlich saure Eigenschaften, neutralisiert kaustische Alkalien, ja die Lösung in Natron oder Ammon reagiert sauer, solange noch etwas ungelöst ist. Auch mit der organischen Base, an die das Nuklein im Samen gebunden war, läßt es sich von neuem verbinden. Nuklein in Ammon gelöst, gibt mit der Lösung eines Protaminsalzes einen in Wasser und in Ammonüberschuß unlöslichen, in fixen Alkalien löslichen Niederschlag, welcher aus stark lichtbrechenden, soliden Kugeln besteht (S.-A. p. 25, 26).

Im Anschluß an seine Untersuchung der Eiterzellen untersuchte Hoppe-Seyler (l. c. p. 500) den Zellinhalt der Hefe. Hefe wurde mit Äther geschüttelt und dann mit Wasser extrahiert. Unter anderen Stoffen konnten so „viel gerinnbare Eiweißstoffe“ erhalten werden. „Nach dieser Behandlung mit Wasser nahmen verdünnte Chlornatronlösung, Sodalösung, verdünnte Natronlauge, nacheinander zur Einwirkung gebracht, noch organische Stoffe auf. Die Soda- und Ätznatronlösung löste einen durch Salzsäure schwierig vollkommen fällbaren, phosphorreichen Körper,“ welcher nach geeigneter Reinigung folgende Zusammensetzung zeigte:

C	43,00	Proz.
H	6,06	„
N	15,31	„
P	2,58	„

Hoppe-Seyler hält den Körper für eine dem Nuklein der Eiterzellen verwandte oder damit identische Substanz.

„So wie die Eiterkörperchen enthalten auch diese Elementarorganismen der Hefe neben Cholesterin, Lecithin, Fetten einen phosphorhaltigen, den Eiweißstoffen ähnlichen, in Magensaft unverdaulichen, durch Jod braun gefärbten Körper, der wohl auch hier dem Kern zugehören und vielleicht eine höchst wichtige Rolle bei allen Zellentwicklungen spielen mag. Es wäre nicht unwichtig, die Verbreitung des Vorkommens dieser Substanz in sich entwickelnden Zellen von Pflanzen und Tieren zu untersuchen.“

Während in den bisher behandelten Arbeiten vorwiegend der Zellkern das Interesse der Forscher in Anspruch genommen hatte, suchte Reinke¹⁾ in einer Reihe von Untersuchungen die chemische Beschaffenheit des Protoplasmas zu ermitteln.

¹⁾ Reinke, Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium der Universität Göttingen. Berlin 1881—1883. I. Die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas von *Aethalium septicum* von J. Reinke und H. Rodewald. II. Protoplasma-probleme von J. Reinke. III. Ein Beitrag zur physiologischen Chemie von *Aethalium septicum* von J. Reinke.

Das Protoplasma von *Aethalium* reagiert nach Reinke alkalisch.¹⁾ Es besteht aus einer festen Gerüstsubstanz und flüssigem Enchylema. Dieses kann durch Pressung von der Gerüstsubstanz getrennt werden. Das lebende Protoplasma besteht seinem Gewichte nach zu zwei Drittteilen aus abpreßbarer Flüssigkeit, welche durch Erwärmen koagulierbare Eiweißstoffe enthält, deren Menge etwa 7—8 Proz. des lebenden Protoplasmas beträgt (I, p. 11). Der größere Teil der Gerüstsubstanz besteht aus einem den Eiweißstoffen nahestehenden Körper, dem „Plastin“.

Das Plastin erhielt Reinke aus Preßrückständen frischen Plasmas, welche an 2proz. Kalilauge und 0,2proz. Salzsäure keine eiweißartigen Substanzen abgaben. Sie wurden mit sehr verdünnter Salzsäure so lange digeriert, bis keine Kohlensäure mehr entwich, hierauf andauernd mit Wasser ausgewaschen, abgepreßt, der Rückstand mit Wasser ausgekocht und bei 100° getrocknet, endlich mit Äther und Alkohol bis zur Erschöpfung extrahiert. Das Präparat, das beinahe aschenfrei war, ergab im Mittel die Zusammensetzung:

C	53,49 Proz.
H	1,22 „
N	11,92 „

„Außerdem ergab sich ein nicht genau bestimmter Gehalt an S, P und selbstverständlich an O“ (I, p. 50).

Beim Kochen mit stärkeren Alkalien löst sich das Plastin vollständig und wird durch Säuren aus dieser Verbindung wieder gefällt.

Weitere Analysen²⁾ bestätigten den Gehalt von rund 12 Proz. N und ergaben 0,33 Proz. S, 2,15 Proz. P.

Reinke vermutet in dem Plastin ein Produkt der Synthese aus einem Eiweißstoff und einem Nuklein unter Eintritt einer größeren stickstofffreien Gruppe. „Die Verwandtschaft des Plastins mit den Nukleinen wird durch seinen Phosphorgehalt dargetan, der Eintritt der stickstofffreien Gruppe durch den Mindergehalt an Stickstoff (den bisher bekannten Eiweißstoffen gegenüber, I, p. 51); durch seine Unlöslichkeit in verdünnten Alkalien ist das Plastin von den Nukleinen unterschieden“ (III, p. 1).

¹⁾ Hinsichtlich der Literatur über die Reaktion des Protoplasmas vgl. das Referat über Frank Schwarz, Protoplasma (Botan. Ztg., 1887, p. 577) und Zimmermann, Sammelreferate, p. 326 (Beihefte zum Botan. Centralblatt, 1893), ferner: G. Kraus, Über die Zusammensetzung des Siebröhrensaftes der Kürbisse und alkalisch reagierende Zellsäfte. (Abhandl. der Naturforschergesellschaft zu Halle, Bd. XVI, 1886, p. 387.) Alkalische Reaktion des Protoplasmas ist für eine Reihe von pflanzlichen und auch tierischen Objekten (vgl. die hier weiter unten angeführten Angaben Halliburton's) nachgewiesen worden.

²⁾ „Das Präparat war durch Auswaschen des frischen Preßrückstandes mit ganz verdünnter Kalilauge von Nuklein möglichst befreit worden“ (III, p. 2).

Das Plastin ist nach Reinke in viel höherem Maße als die Eiweißkörper die eigentliche chemische Grundlage des lebensfähigen Plasmas. Da in allen Pflanzenzellen nach der Behandlung mit Lösungsmitteln für Eiweißstoffe, Nuklein usw. immer ein stickstoffhaltiges Residuum von nicht unbeträchtlicher Quantität zurückbleibt, glaubt Reinke, Plastin fehle in keiner Pflanzenzelle. Es ist seines Erachtens „eine für das Zustandekommen von lebendem Protoplasma unbedingt notwendige Verbindungsform“. ¹⁾

Eiweißstoffe können dem lebenden Protoplasma fehlen. Eine von Reinke „mit sämtlichen, auch den empfindlichsten Eiweißreagentien geprüfte *Vaucheria* ergab ein durchaus eiweißloses Protoplasma“. Auch die Trockensubstanz des Protoplasmas von *Aethalium septicum* enthält nur 6 Proz. Eiweißstoffe (III, p. 9, 10).

Schon Sachs ²⁾ hatte ausgesprochen, daß das Protoplasma des fertiggestreckten Parenchyms nicht eiweißartig zu sein scheine. Später hat sich Alexander Schmidt ³⁾ unter Hinweis auf die Untersuchungen von Reinke für tierische Zellen in ähnlichem Sinne geäußert.

Die von Loew und Bokorny aufgestellte und verteidigte Hypothese von der Aldehydnatur des lebenden Protoplasmas und deren Beziehungen zum Eiweißgehalt desselben sollen hier nicht erörtert werden. ⁴⁾

Eine wesentliche Förderung erfuhr die Kenntnis der Nukleinkörper dadurch, daß Kossel die Untersuchung ihrer Spaltungsprodukte in Angriff nahm.

Kossel ⁵⁾ untersuchte die Hefe und gewann aus dieser Nuklein, indem er den Körper aus seiner Lösung in Natronlauge durch Salzsäure ausfällte. Sowohl nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur, als auch nach dem Erhitzen auf 120° war er teilweise in Natronlauge und Sodalösung löslich und aus den Lösungen durch Salzsäure fällbar. Kochte man das frisch gefällte Nuklein mit Wasser, so löste es sich vollständig auf. Von dem mit Alkohol behandelten

¹⁾ Einen abweichenden Standpunkt vertrat Löw (Noch einmal über das Protoplasma. Botan. Ztg., 1884, p. 113, und: Über den mikroskopischen Nachweis von Eiweißstoffen. Ebenda, p. 273). Vgl. hingegen meine Erwiderung. (Botan. Ztg., 1884, p. 389.)

²⁾ Sachs, Mikrochemische Untersuchungen. (Flora, 1862.)

³⁾ Alexander Schmidt, Zur Blutlehre. Leipzig 1892, p. 152.

⁴⁾ Eine Darstellung der auf diese Hypothese bezüglichen Literatur findet sich bei Zimmermann (Sammelreferate aus dem Gesamtgebiet der Zellenlehre, p. 323. Beihefte zum Botan. Centralblatt. 1893).

⁵⁾ Kossel, Über das Nuklein der Hefe. (Zeitschrift für physiolog. Chemie, III, IV, 1880.)

und bei 110° getrockneten Nuklein blieben nach zwölfstündiger, kräftiger Pepsinverdauung nur 33,7 Proz. übrig.

Durch längeres Kochen der mit Alkohol behandelten Hefenukleinfällungen in Wasser erhielt Kossel einen phosphorfreien Niederschlag, eine wässrige saure Lösung und ein flüchtiges Produkt. Nach dem Trocknen bei 115° war der Niederschlag nicht löslich in siedendem Wasser, siedender oder kalter, verdünnter oder rauchender Salzsäure. Künstlicher Magensaft löste nach mehrtägiger Wirkung nur 3,35 Proz. Der Körper war leicht löslich in siedender Natronlauge, warmer konzentrierter Schwefelsäure, warmer konzentrierter Salpetersäure. Seine Zusammensetzung näherte sich derjenigen der Eiweißkörper.

Unter den in Wasser löslichen Spaltungsprodukten fanden sich neben Phosphorsäure, Xanthin, Hypoxanthin, Sarkin noch peptonähnliche Körper.

In seiner Abhandlung über die Nukleine und ihre Spaltungsprodukte¹⁾ neigt Kossel zu der Ansicht, daß das Nuklein der Hefe „die vielleicht nur lockere chemische Verbindung eines eiweißartigen Atomkomplexes mit dem phosphorhaltigen Körper darstelle“.

Zu ähnlichen Schlüssen führte die Untersuchung der Kernsubstanz aus den roten Blutkörperchen der Gans und dem Eiter.

Die Darstellung des Nukleins aus dem Gänseblut erfolgte aus isolierten, mit Wasser und Äther geschüttelten Blutkörperchen, deren Kerne bei diesem Verfahren erhalten blieben. Sie wurden dann entweder mit Wasser gewaschen und mit Alkohol ausgekocht oder mit Wasser und verdünnter Salzsäure gewaschen und dann mit Alkohol ausgekocht, oder anfangs mit Wasser, dann mit Alkohol und dann mit Pepsinlösung behandelt, oder endlich anfangs mit Salzsäure, dann mit Pepsinlösung und schließlich mit siedendem Alkohol behandelt.

Die Untersuchung der erzielten Präparate ergab, „daß in oder neben den Zellkernen noch eine eiweißartige, durch Pepsin verdauliche und in Salzsäure lösliche Substanz der lösenden Wirkung des Wassers widersteht“. Die gewonnene Kernsubstanz war unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, löslich in Natronlauge und rauchender Salzsäure.

Hoppe-Seyler²⁾ hielt es in seiner Zusammenfassung der im Jahre 1881 vorhandenen Literatur nicht für unwahrscheinlich, daß es mehrere Nukleine von ähnlichen Eigenschaften und ähnlicher Zusammensetzung gäbe.

In der Folge fand Kossel³⁾, daß sich bestimmte Nukleine hin-

¹⁾ Kossel, Über die Nukleine und ihre Spaltungsprodukte. Straßburg 1881.

²⁾ Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie. Berlin 1881.

³⁾ Kossel, Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. X. 1886.)

sichtlich ihrer Spaltungsprodukte von dem Hefenuklein sehr wesentlich unterscheiden. Bei der Zersetzung der Nukleine aus Eidotter und Milch treten die stickstoffreichen Basen nicht auf, welche „aus dem Kernnuklein stets entstehen“. „Die Eigentümlichkeiten der Nukleine (sagte Kossel) rechtfertigen es, daß man sie im chemischen System als eine Gruppe zusammenstellt; aber innerhalb dieser Gruppe sind chemisch und physiologisch verschiedene Abteilungen zu unterscheiden: Das Nuklein des Zellkerns, welches die stickstoffhaltigen Basen enthält, das Nuklein des Dotters und der Milch, dem sie fehlen.“ Im Jahre 1891 faßte dann Kossel die Ergebnisse der über die chemische Beschaffenheit der Zelle vorliegenden Arbeiten in seiner Gewebelehre¹⁾ zusammen.

Kossel unterschied „primäre“ oder „wesentliche, nie fehlende“ Stoffe in der jugendlichen, entwicklungsfähigen Zelle (diejenigen Atomkomplexe, an welche das Leben geknüpft ist) von den nicht wesentlichen (sekundären), welche nicht in jeder entwicklungsfähigen Zelle vorhanden sind, welche als Nähr- oder Baustoffe von außen aufgenommen sind, oder welche erst dann auftreten, wenn die Zelle ihren ursprünglichen Charakter verliert.

Als primäre Bestandteile werden aufgeführt: Eiweißkörper, Lecithin²⁾, Cholesterine, anorganische Stoffe.

„Aus der Gruppe der Eiweißstoffe sind folgende vier Körperklassen wahrscheinlich stets vertreten: Globuline, Vitelline, Plastin, Nukleine und Nukleinsäuren.“

Als Nukleine sind bezeichnet worden:

1. Phosphorsäurehaltige Eiweißkörper, die von den eigentlichen Nukleinen chemisch durchaus verschieden sind. Sie liefern bei ihrer Spaltung mit verdünnten Säuren die Basen nicht, welche man als Nukleinbasen bezeichnet hat. Es handelt sich hier um die im Eidotter, der Milch usw. enthaltenen, schon früher erwähnten Stoffe. Sie sind als „Paranukleine“ von den eigentlichen Nukleinen unterschieden worden.
2. Vereinigungen eines eiweißartigen Körpers mit einem organischen, Phosphorsäure enthaltenden Atomkomplex. Bei ihrer Spaltung entstehen bestimmte stickstoffreiche Basen, Nukleinbasen (Adenin, Guanin, Hypoxanthin, Xanthin), welche in

¹⁾ P. Schiefferdecker und A. Kossel, Gewebelehre. Erste Abteilung. Braunschweig 1891. Vgl. ferner: Kossel, Über die chemische Zusammensetzung der Zelle. (Verhandl. d. physiolog. Gesellschaft zu Berlin, Sitzg. 30. Januar 1891.) Über die Nukleinsäure. (Ebenda, 14. Oktober 1892.) Weitere Beiträge zur Kenntnis der Nukleinsäure. (Ebenda, 8. Dezember 1893.)

²⁾ Lecithin kann in Verbindung mit Eiweißkörpern vorkommen. Vgl. Kossel, Über den gegenwärtigen Stand der Eiweißchemie. (Berichte der deutschen Chem. Gesellsch., Jahrg. XXXIV Heft 13, 1901, p. 3240 u. die hier citierte Literatur.)

ihren Eigenschaften und in ihrem chemischen Bau eine nahe Verwandtschaft zur Harnsäure zeigen.¹⁾

Diese Substanzen sind die Nukleine im engeren Sinne des Wortes.

3. Körper, welche sich in vieler Hinsicht wie die echten Nukleine verhalten, aber keine eiweißartigen Bestandteile enthalten, Nukleinsäuren.

Die Nukleine zerfallen nach Altmann²⁾ bei der Einwirkung von Alkalien in Nukleinsäuren und Eiweißkörper.

Nukleinsäuren sind nach Altmann wie die Nukleine in alkalischem und ammoniakalischem Wasser leicht löslich, werden jedoch im Gegensatz zu diesen daraus durch Übersäuern mit Essigsäure nicht gefällt, wohl aber durch einen geringen Überschuß von Salzsäure. Durch großen Überschuß der Mineralsäuren tritt wieder Lösung ein. In essigsaurer Lösung werden die Nukleinsäuren gut konserviert. In saurer Lösung fallen die Nukleinsäuren Eiweiß. Die Fällungen sind in alkalischem und ammoniakalischem Wasser löslich, durch Essigsäure und Salzsäure fällbar und gegen Pepsin resistent.

¹⁾ Kossel, Über die Lymphzellen. (Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1894. S.-A. p. 3.)

²⁾ Altmann, Über Nukleinsäuren. (Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abteilung, 1889, p. 524.) — Auf Altmann's Untersuchungen gestützt hat auch Malfatti (Zur Chemie des Zellkerns. Berichte des naturwissensch. mediz. Vereins in Innsbruck, XX. Jahrg., 1891/92) Nukleinsäure aus Hefenuklein dargestellt. Er behandelte Hefenuklein mit 3proz. Natronlauge, verdünnte die Lösung mit Wasser und fällte dann fraktioniert mit Essigsäure. Jede folgende Fällung zeigte einen höheren P-Gehalt als die vorhergehende und bedurfte größere Mengen von Säuren zu ihrer Fällung. War durch Essigsäure keine Ausscheidung mehr zu erreichen, so brachte Salzsäure in der sauren Flüssigkeit einen Niederschlag hervor. Dieser ist nach Malfatti die Nukleinsäure von Altmann. Die P-reicheren Essigsäurefällungen unterscheiden sich nur sehr wenig von der eigentlichen Nukleinsäure, dem P-reichsten Körper. „Sie sind in verdünntester Ammoniakflüssigkeit mit saurer Reaktion löslich, die Lösung wird durch Essigsäure nur bei Anwendung eines großen Überschusses gefällt, und eine solche essigsaurer Lösung ist insofern, sowohl Eiweißlösungen als auch die Lösungen der P-ärmeren Glieder der besprochenen Körperreihe unter Bildung von Nukleinen zu fällen, ganz so wie die Nukleinsäure selbst.“ Auch zwischen den P-reicheren und P-ärmeren Essigsäurefällungen findet sich dann kein wesentlicher Unterschied der Eigenschaften. Jeder dieser Körper läßt sich durch Behandlung mit 3proz. Kalilauge und fraktioniertes Fällen mit Essigsäure wiederum in P-ärmere Fraktionen und Nukleinsäure zerspalten. „Die P-ärmsten dieser Fraktionen enthalten 0,5—1 Proz. P, aber auch dieser P-Gehalt scheint durch öfteres Behandeln mit Alkalien und Säuren abspaltbar zu sein, und es hinterbleiben P-freie, eiweißähnliche Körper.“ Die Gruppe P-ärmster Körper vergleicht Malfatti mit dem „unlöslichen“ Eiternuklein von Miescher und den Plastinkörpern, mit welchen sie in einigen Reaktionen übereinstimmen. (Vgl. E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1893, p. 302.)

Die Nukleinsäuren scheinen selbst gegen Pepsin weniger widerstandsfähig zu sein als ihre Eiweißfällungen.

Daß es verschiedene Nukleinsäuren gibt, folgt aus der Natur ihrer Spaltungsprodukte.

Bedenken wir nun, sagt Kossel (l. c. 1893), daß jede der Nukleinsäuren mit jedem löslichen Eiweißstoff Verbindungen bilden kann, so ergibt sich eine unabsehbare Reihe von Nukleinstoffen. Ob in der Natur viele verschiedene Nukleine vorhanden sind, das ist freilich eine andere Frage.

„Für die Beurteilung des Vorkommens der Nukleinsäure in den Geweben ist es wichtig, daß die Nukleinsäure sich einerseits mit Eiweiß paaren, andererseits mit Basen zu salzartigen Verbindungen zusammentreten kann (z. B. Lachsnukleinsäure mit Protamin). Da die Verbindungen der Nukleinsäure mit Eiweiß selbst Säuren sind, so gibt es auch Verbindungen, welche alle drei Komponenten Nukleinsäure, Eiweiß und Base enthalten können.“ In den Leukocyten hat Lilienfeld¹⁾ eine Substanz dieser Art gefunden, das Nukleohiston. Dieses ist aufzufassen als „ein Salz, und zwar ein Salz, in welchem an eine Säure (das Leukonuklein) eine ausgesprochene Base eiweißartiger Natur, das Histon gekettet ist. Das Leukonuklein seinerseits ist eine Verbindung von Eiweiß mit Nukleinsäure“. Auf 100 Teile Trockensubstanz der Leukocyten fand Lilienfeld 68,78 Proz. Leukonuklein und 8,67 Proz. Histon.

Das Histon hatte Kossel bereits früher²⁾ aus den Kernen des Vogelbluts durch Extraktion mit verdünnter Säure erhalten. Später³⁾ gelang es dann Kossel, Histon aus Protamin und Albumose darzustellen. Es wurde dann ferner der Nachweis geführt⁴⁾, daß es verschiedene Protamine gibt. Ein zur Protamingruppe gehöriger Atomkomplex liegt nach Kossel's Auffassung auch dem Molekül der komplizierteren Eiweißkörper allgemein zugrunde.

¹⁾ Lilienfeld, Über die Wahlverwandschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen. (Verhandlungen der Physiologischen Gesellsch. zu Berlin, 7. April 1893.) Über Leukocyten und Blutgerinnung. (Ebenda, 8. April 1892.) Über den flüssigen Zustand des Blutes und die Blutgerinnung. (Ebenda, Juli 1892.) Zur Chemie der Leukocyten. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 1893.) Vgl. auch Malengreau, Deux Nucléalbumines et deux Histones dans le Thymus. (La Cellule, T. 19, Louvain 1900, p. 339.)

²⁾ Kossel, Über einen peptonartigen Bestandteil des Zellkerns. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1884.)

³⁾ Kossel, Über die Lymphzellen. (Deutsche Med. Wochenschr., 1894.) Vgl. ferner: Kossel, Über die basischen Stoffe des Zellkerns. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 1896.) Kossel und Kutscher, Über die Eiweißstoffe. (Sitzungsber. der Gesellsch. zur Beförderung der gesamten Naturw. zu Marburg, 6. April 1900.)

⁴⁾ Kossel, Über die Konstitution der einfachsten Eiweißstoffe. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 1898.)

Hammarsten¹⁾ klassifiziert die Nukleinstoffe wie folgt: Als Nuklein sind nur diejenigen in verdünnter Säure unlöslichen Verbindungen zwischen Eiweiß und Nukleinsäure zu bezeichnen, welche als unlösliche Spaltungsprodukte bei der Pepsinverdauung anderer mehr komplizierter Nukleinsubstanzen entstehen. Alle übrigen, mehr komplizierten Nukleinsubstanzen, die bei der Pepsinverdauung in Eiweiß und echtes Nuklein sich spalten, sind Nukleoproteide. „Hierbei ist indessen zu beachten (sagt Hammarsten, Lehrbuch p. 150), daß die Nukleine der Wirkung des Magensaftes nicht ganz widerstehen, und daß wenigstens ein Nukleoproteid, nämlich eines aus der Pankreasdrüse, fast ohne Nukleinrest vom Magensaft gelöst werden kann.“ Nach Umber²⁾ wurde die Lösung allerdings erst nach sehr lange andauernder Einwirkung des Magensaftes erreicht: Bei der Pepsinverdauung des Nukleoproteids aus Pankreas wurde nach vier-tägiger Einwirkung der Verdauungslösung diese erneuert und dann die Verdauung weiter fünf Wochen lang fortgesetzt, wobei von Zeit zu Zeit etwas Pepsin hinzugegeben wurde. „Nach dieser Zeit war rund $\frac{9}{10}$ des Nukleoproteids durch Pepsinverdauung in Lösung übergeführt worden.“

Die Paranukleine Kossel's nennt Hammarsten „Pseudonukleine“: phosphorhaltige Stoffe, welche wie das Kasein keine Proteide sind und bei der Pepsinverdauung ein Pseudonuklein liefern: „Nukleoalbumine“. Aus diesen erhält man keine den Nukleinsäuren entsprechende eiweißfreie Säuren, sondern phosphorreiche Säuren, die immer Eiweißreaktionen ergeben.³⁾

Das Auftreten einer Pseudonukleinfällung bei der Pepsinverdauung der Nukleoalbumine hängt übrigens von der Intensität der Pepsinverdauung ab, von dem Säuregrade und der Relation zwischen Nukleoalbumin und Verdauungsflüssigkeit.⁴⁾

„Die Proteinsubstanzen der Zellen (meint Hammarsten, l. c. p. 143) sind ihrer Hauptmasse nach Proteide, und diese Proteide gehören teils der Glykoproteid- und teils der Nukleoproteidgruppe an. Inwieweit die Zelle auch Nukleoalbumine enthält, ist gegenwärtig nicht möglich zu sagen, da man bisher in vielen Fällen keinen genauen Unterschied zwischen ihnen und den Nukleoproteiden gemacht hat.“

¹⁾ Hammarsten, Zur Kenntnis der Nukleoproteide. (Zeitschr. für Physiol. Chem., 1894.) Vgl. auch Hammarsten, Lehrbuch d. Physiol. Chem., 6. Aufl., 1907.

²⁾ Umber, Über die fermentative Spaltung der Nukleoproteide im Stoffwechsel. {Zeitschr. für klinische Medizin, Berlin 1901, Bd. 43 p. 286.)

³⁾ Hammarsten, Lehrbuch, p. 47.

⁴⁾ Hammarsten, Lehrbuch, p. 47. Vgl. Salkowski, Über das Verhalten des Kaseins zu Pepsinsalzsäure. (Pflüger's Archiv, 63, 1896, p. 421.) A. Wiemann, Studien über Legumin. (Upsala Läkareförenings Förhandlingar. Ny följd. B. II, 1896—97, Häft. No. 9.)

Bereits 1885 hatte Hammarsten über die chemische Beschaffenheit des Protoplasmas ähnliche Anschauungen gewonnen, wie sie früher von Sachs und Reinke vertreten worden waren. „Soweit ich aus eigenen Beobachtungen und Untersuchungen schließen kann (schreibt Hammarsten¹⁾), können unsere bisherigen Vorstellungen über die eiweißartigen Bestandteile des Protoplasmas wohl kaum richtig sein. Die Hauptmasse der freien Zellen und der zellenreichen Organe — wie die Drüsen — bestehen nämlich meiner Erfahrung nach nicht aus genuinen Eiweißstoffen im gewöhnlichen Sinne, also nicht aus Globulinen oder Albuminen, sondern aus weit mehr zusammengesetzten Proteidsubstanzen, welche außer N und S gewöhnlichenfalls auch P und Fe enthalten. Diese Proteinsubstanzen repräsentieren das eigentliche Protoplasmaeiweiß; und die Albumine und Globuline dürften vielmehr teils als das Nährmaterial der Zelle und teils als Zerfallprodukte bei der chemischen Umwandlung des Protoplasmas aufzufassen sein.“

Dem entsprechend fand Ruppel²⁾, daß selbst bei sehr lange fortgesetzter Einwirkung von Pepsinchlorwasserstoffsäure auf Tuberkelbazillen (gleichgültig ob man vorher eine Extraktion der Fette vorgenommen hatte oder nicht) „nur sehr unwesentliche Mengen der Eiweißsubstanzen der Bazillen in lösliche Modifikationen übergehen“. Es ist allerdings fraglich, ob und inwieweit hier die Membran der Bazillen das Resultat beeinflußt hat.

Durch Extraktion zerkleinerter Bazillen mit Wasser erzielte Ruppel eine Gewichtsverminderung der Bazillenmasse um etwa die Hälfte. Eine Nukleinsäureverbindung bildete den Hauptbestandteil des Extrakts.

Aus pulverisierten, mit Ätheralkohol extrahierten „Pilzen“ erhielt Winterstein³⁾ Wasserextrakte, welche weder beim Ansäuern mit verdünnter Essigsäure noch beim Kochen eine Ausscheidung von Eiweißsubstanzen ergaben. Auch aus den Extrakten, welche durch Behandlung des Pilzpulvers mit 10proz. Kochsalzlösung gewonnen wurden, gelang es nicht, nach den bekannten Methoden Eiweiß abzuscheiden. Sehr geringe Ausscheidungen bewirkten Essigsäure und Mineralsäuren in einem Auszuge, der in der Kälte mit 0,2—1proz. Natronlauge aus dem mit Äther, Alkohol und Wasser vorbehandelten Pilzpulver gewonnen worden war.

¹⁾ Hammarsten, Studien über Mucin und mucinähnliche Substanzen. (Pflüger's Archiv, 1885, p. 449.)

²⁾ Ruppel, Zur Chemie der Tuberkelbazillen. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie, 1898/99.)

³⁾ Winterstein, Über die stickstoffhaltigen Bestandteile grüner Blätter. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1901, p. 326.)

Nur durch Behandlung mit gesättigter Barytlösung in der Kälte oder mit 20proz. Salzsäure in der Wärme gingen größere Mengen von Eiweißstoffen in Lösung.

Winterstein hält das Vorkommen von Glykoproteiden bei den Pilzen für wahrscheinlich.¹⁾

Ganz unbedeutend war in allen Fällen die Substanzmenge „gegenüber dem aus den Ergebnissen der Analysen sich berechnenden Proteingehalt“, welche Winterstein durch Extraktion mit Lauge und Ansäuern aus grünen Blättern verschiedener Pflanzen erhalten konnte. Aus den nach der Behandlung mit verdünnter und 1proz. Lauge verbliebenen, mit sehr verdünnter Salzsäure und destilliertem Wasser ausgewaschenen Rückständen wurde durch Erwärmen mit 30proz. Salzsäure ein Teil der Substanz gelöst. In der mit Wasser verdünnten Lösung erzeugte Phosphorwolframsäure einen flockigen Niederschlag.

Zu den Nukleoproteiden gehören nach Hammarsten²⁾ und Umber³⁾ die „Nuklealbumine“ Halliburton's und seiner Schüler aus Thymus, Hoden, Nieren, Leber, Gehirn, Knochenmark und roten Blutkörperchen, ferner das Gewebsfibrinogen von Wooldridge, das Cellfibrinogen (Wright), Cytoglobin und Präglobulin (Alexander Schmidt), Nukleohiston (Kossel und Lilienfeld), Nuklealbumin (Pekelharing) usw. Eine eingehendere Behandlung der über die Nukleoproteide herangewachsenen Literatur würde den Rahmen dieser Darstellung überschreiten.

Für die hier in Betracht kommenden Fragen sind, indessen abgesehen von den bereits besprochenen, namentlich noch die Arbeiten der folgenden Autoren von Interesse: A. Schmidt⁴⁾ untersuchte u. a. farblose Blutkörperchen vom Pferde, Zellen der Lymphdrüsen vom Rinde, der Milz vom Kalbe, der Leber vom Kalbe. Die Zellen wurden successive mit Alkohol, Wasser und 10proz. Kochsalzlösung extrahiert.

Den in das Wasserextrakt übergehenden Körper nannte Schmidt Cytoglobin. Dasselbe wird durch Alkohol aus seiner Lösung gefällt. In wässriger Lösung reagiert es neutral und wird durch Ansäuern mit Essigsäure zersetzt. Es entsteht dann ein in Wasser unlöslicher

¹⁾ Vgl. auch Winterstein, Über die stickstoffhaltigen Stoffe der Pilze. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 26, p. 438, 1898/99.)

²⁾ Hammarsten, Zur Kenntnis der Nukleoproteide. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 19, 1894.)

³⁾ Umber, Das Nukleoprotein des Pankreas. (Zeitschr. für klinische Medizin, 40. Bd., 1900.)

⁴⁾ Alexander Schmidt, Zur Blutlehre. Leipzig 1892. Kapitel 12.

Körper, das „Präglobulin“, und ein anderes, in Lösung bleibendes Produkt. Das Präglobulin ist leicht löslich in „verdünnten und in kohlensauren Alkalien“. Durch Pepsinsalzsäure und Trypsin werden Cytoglobin und Präglobulin wenig oder gar nicht verdaut.

Eine von Demme¹⁾ ausgeführte Analyse ergab für 100 g des auf der Centrifuge gesammelten Zellenbreis von Lymphdrüsen einen Trockenrückstand von 11,41 g. Derselbe besaß folgende prozentische Zusammensetzung:

1. Durch Alkohol extrahierte Stoffe	30,40
2. In Alkohol lösliche, aber erst mit dem Cytoglobin in das Wasserextrakt übergegangene Stoffe	6,33
3. Cytoglobin	27,81
4. Unlöslicher Rest	35,46

Der Rest wurde aus der Differenz berechnet. Bezieht man den Cytoglobingehalt der Zellen auf den nach beendeter Erschöpfung mit Alkohol übrigbleibenden Zellenrest (mit Einschluß der unter 2. angegebenen Stoffe), so beträgt er 39,96 Proz. In der Leber fand Demme 15 Proz., in der Milz 11 Proz. Cytoglobin, auf den mit Alkohol erschöpften Zellenrest berechnet. Die roten Blutkörperchen der Säugetiere enthalten kein Cytoglobin, wohl aber ist es vorhanden in den kernhaltigen roten Blutkörperchen des Huhns (A. Schmidt, p. 139).

„Auf die wasser- und aschefreie Substanz bezogen, ergab sich für das Cytoglobin die folgende prozentische Zusammensetzung:

C	H	N	S	P
52,39	6,86	16,66	3,49	4,50.“

Den in Alkohol, Wasser und 10proz. Kochsalzlösung „unlöslichen Grundstoff des Protoplasmas“ nannte Schmidt Cytin. Konzentrierte Alkalien lösen das Cytin schon in der Kälte, mäßig verdünnte beim Kochen, und zwar beide unter Zersetzung. Mit Salzsäure von 0,15 bis 0,2 Proz. digeriert spaltet sich nach längerer Zeit etwas Acidalbumin vom Cytin ab, welches, wenn Pepsin zugegen ist, verdaut wird. Aber die verdauten Mengen waren selbst nach 24stündiger Einwirkung der Pepsinsalzsäure äußerst gering, namentlich beim Lebercytin. Die Elementaranalyse ergab für 100 g wasser- und aschenfreies Lymphdrüsen cytin nach Knüpfker²⁾:

C	H	N	S	P	Fe
51,40	7,40	14,45	3,32	0,45	0,17.

¹⁾ Demme, Über einen neuen Eiweiß liefernden Bestandteil des Protoplasmas. Inaug.-Diss. Dorpat 1891.

²⁾ A. Knüpfker, Über den unlöslichen Grundstoff der Lymphdrüsen und Leberzellen. Inaug.-Diss. Dorpat 1891.

Über den Eiweißgehalt des Protoplasmas spricht sich A. Schmidt (p. 148 ff.) folgendermaßen aus: „Daß das tierische Protoplasma Eiweiß enthalte, erschien mir anfangs, nach den Ergebnissen meiner Analyse desselben, ganz zweifelhaft, und auch jetzt, wo ich zu einer Entscheidung dieser Frage gelangt bin, muß ich doch behaupten, daß sein Eiweißgehalt ein höchst unbedeutender ist. Man braucht, um zu diesem Schluß zu gelangen, nur die einzelnen Bestandteile des Protoplasmas ins Auge zu fassen. Die in Alkohol löslichen, welche bis 30 Proz. des ganzen Zellenrückstandes ausmachen können, stehen von vornherein außer Frage. Das Cytin und Cytoglobin aber sind nicht Eiweißstoffe, sondern sind mehr als das; denn sie liefern Eiweiß erst bei ihrer Zersetzung neben ganz anders gearteten Zersetzungsprodukten. Das Cytoglobin wird außerdem aus seiner wässrigen, neutralen Lösung durch Alkohol gefällt, ohne koaguliert zu werden, ein Verhalten, welches die eiweißartige Natur dieses Körpers von vornherein zweifelhaft erscheinen läßt. Es bleibt also nur der in minimalen Mengen vorkommende, in mäßig konzentrierter Kochsalzlösung lösliche Körper als einziger möglicher Eiweißbestandteil der Zelle übrig, und ein solcher ist er in der Tat.“ Die Leberzellen sind beträchtlich reicher daran als die Lymphdrüsenzellen. Auch dann, als in den Lymphdrüsenzellen direkt, mit Umgehung der Alkoholeinwirkung, nach Eiweißstoffen gesucht wurde, entsprach das Resultat den obigen Ausführungen.

„Reinke und Rodewald fanden im lufttrockenen Protoplasma von *Aethalium septicum* nahezu 6 Proz. Eiweiß (Vitellin und Myosin). Von solchen Quantitäten kann beim tierischen Protoplasma nach den von mir untersuchten Zellenarten nicht die Rede sein; im besten Falle handelt es sich hier um schwer wägbare Mengen. Nicht als wesentliche, spezifische Bestandteile des tierischen Protoplasmas sind diese Stoffe für dasselbe von der allergrößten Bedeutung, sondern als seine Nähr- und Ausscheidungsstoffe.“

Halliburton¹⁾ untersuchte u. a. die Nieren der Katze. Das Blut wurde auf dem Wege der Durchströmung mit 0,6 Proz. NaCl entfernt. Dann wurden die Nieren zerkleinert.

Die Substanz der frisch von Blut und darauf durch Kneten in neutraler Salzlösung auch von Lymphe und Urin befreiten Niere reagierte alkalisch. „This is the case with most cellular tissues of the body.“

Mit 5proz. Lösungen von Magnesiumsulfat konnten ein Globulin und ein Nukleoalbumin aus den blutfreien Nieren extrahiert werden. Das Globulin koagulierte bei 52° C, löste sich in künstlichem Magen-

¹⁾ Halliburton, The proteids of Kidney- and Livercells. (The Journal of Physiology, Vol. XIII, Cambridge 1892.)

saff und enthielt keinen Phosphor. Das Nukleoalbumin koagulierte bei 63° C und hinterließ bei der Verdauung mit künstlichem Magensaft einen unlöslichen Rückstand von Nuklein.

Die Extraktion des Nukleoalbumins konnte auch durch Kochsalzlösung¹⁾ oder durch destilliertes Wasser (wahrscheinlich unter Beihilfe der anorganischen Salze der Niere) erreicht werden. Aus dem wässrigen Extrakte wurde es durch verdünnte Essigsäure ausgefällt.

Das Nukleoalbumin ist derjenige Eiweißstoff, der in größter Menge aus den Nieren erhalten werden konnte. Unter Hinweis auf die einschlägige Literatur bemerkt Halliburton: „Such nuclealbumins may be obtained from all cellular structures.“²⁾

Hinsichtlich der Frage, inwieweit das Nukleoalbumin dem Kerne oder dem Plasma der Zellen entstammte, äußert sich Halliburton (p. 817) wie folgt: „The nuclei when examined microscopically in the residue appeared practically unaltered, they are however a little-swollen when the sodium chloride method is used. The yield of nuclealbumin appears too large to come altogether from the nuclei, and moreover it is matter of difficulty to obtain nuclealbumin by these methods from all organs, which have nuclei; this is notably the case with the liver. One can therefor hardly resist the conclusion that the nuclealbumin originates chiefly from the cellprotoplasm.“

Auch Zaleski³⁾ fand bei seinen Leberuntersuchungen „die Zellen nach kurzer Mazeration mit Wasser scheinbar unverändert und ihre Kerne durch bekannte Kernfärbemittel tingierbar. Nach längerer Mazeration war der Zellleib dieser Zellen mehr homogen, sichtbar weniger granuliert, wobei jedoch die Tingierbarkeit der Kerne nicht verloren gegangen ist“. Nach der Erschöpfung der Zellen durch Wasser und darauf durch 0,75proz. Kochsalzlösung waren sie „geschrumpft und stark verändert“. Ihre Kerne nahmen jedoch die Karmintinktion noch an.

Später hat Halliburton⁴⁾ aus den kernlosen roten Blutkörperchen von Säugetieren ein Nukleoprotein dargestellt. Sein Material war allerdings nicht ganz frei von weißen Blutkörpern, er meint indessen: „The nucleoprotein could not have originated from the few white corpuscles; its amount was too great.“

¹⁾ „It may be prepared from the cells in grinding them up with saturated sodiumchloride solution. The result is a slimy, viscous mass. On pouring this into excess of distilled water, the nuclealbumin separates out in strings and floats to the surface, where it can be collected.“

²⁾ Vgl. u. a. Forrest, The proteids of red marrow. (The Journal of Physiology, Vol. XVIII, 1894—1895, p. 174.)

³⁾ Zaleski, Studien über die Leber. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie, X, 1886.)

⁴⁾ Halliburton, Nucleoproteids. (The Journ. of Physiology, Vol. XVIII, 1895.) Vgl. auch Peskind, The envelope of the red corpuscle. (Amer. Journ. of med. Sciences. Ref. im Biochem. Centralblatt, Bd. III p. 290.)

Die Darstellung des Nukleoproteids wurde dadurch eingeleitet, daß geschlagenes Blut mit einer großen Menge normaler Kochsalzlösung verdünnt wurde. Die von der Lösung abgetrennten Blutkörperchen wurden dann nach gründlichem Auswaschen mit Salzlösung in Wasser gebracht, durch Zusatz einiger Tropfen von 1proz. Natriumbisulfat niedergeschlagen, auf einem Filter gesammelt und mit Wasser ausgewaschen. Das so gewonnene Material wurde noch mit Alkohol und Äther und endlich mit angesäuertem Wasser behandelt. Dann konnte durch Verdauung in künstlichem Magensaft ein Rückstand von Nuklein erhalten werden.

Unsicher bleibt die Herkunft der Nukleinsäurepräparate, die Osborne und Harris¹⁾ aus Weizen dargestellt haben.

Ein Handelsprodukt, welches fast vollständig aus Weizenembryonen bestand, wurde fein gemahlen und dann mit Wasser behandelt (agitated). Die durch ein Seietuch abgepreßte Flüssigkeit blieb 24 Stunden, mit Thymol versetzt, an einem kühlen Orte stehen, worauf das etwas trübe Extrakt von dem entstandenen Bodensatz abgehoben wurde. Aus diesem Extrakt wurde die Nukleinsäure gewonnen. Aus welchen Teilen der Zelle sie herstammte, haben die Autoren nicht erörtert, sie beschränken sich darauf, den Reichtum ihres Ausgangsmaterials an Zellkernen zu betonen (p. 388) Eine Nachprüfung von meiner Seite ergab hier folgendes:

Weizenkörner wurden in einer Pfeffermühle, die ein feines Vermahlen gestattete, zerkleinert. Dann wurde das Mehl mit destilliertem Wasser stark verrührt und endlich die wässerige Lösung durch ein sorgfältig gereinigtes, wollenes Koliertuch abgepreßt. Die Flüssigkeit war stark getrübt. In dem alsbald gebildeten Bodensatz konnten mit Essigkarmin einzelne völlig intakte Kerne erkannt werden, außerdem aber ziemlich viel gefärbte Körper, welche für deformierte Kerne gehalten werden konnten. Nun blieb die Flüssigkeit, entsprechend dem Verfahren Osborne's, unter Zusatz von Thymol 24 Stunden an einem kühlen Orte stehen. Ihre Reaktion war ganz schwach sauer. Nach Ablauf von 24 Stunden war die Flüssigkeit über dem Bodensatz, namentlich in ihren oberen Schichten, noch trübe. Die mikroskopische Untersuchung zeigte hier viel Fetttropfchen, kernähnliche Körper ließen sich mit Essigkarmin nicht nachweisen, wohl aber fanden sich nach Zusatz von Jodjodkalium gelb gefärbte Brocken in geringer Menge, welche als Plasmatrümmer angesehen werden konnten.

¹⁾ Osborne and Harris, The nucleic acid of the wheat embryo. (25. report of the Connecticut agricultural experiment station for the year 1901, New Haven, Conn. 1902.) Dieselben, Die Nukleinsäure des Weizenembryos. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1902.)

Nachdem die obere, trübere Flüssigkeitsschicht mit einer Pipette vorsichtig abgehoben war, konnten in der darunter befindlichen Flüssigkeit sehr wenig Fetttröpfchen und ferner feinkörnige Stärke erkannt werden. „Plasmatrümmer“ kamen ebenso wie in den oberen Schichten vor, kernähnliche Objekte wurden auf Zusatz von Essigkarmin nicht gefunden.

Der Bodensatz bestand im wesentlichen aus Stärke, enthielt aber auch Plasmatrümmer und ziemlich viel intakte, freie Zellkerne, welche in Essigkarmin intensiv gefärbte Granulationen und, wie nach einer Behandlung mit diesem Reagens üblich, an Stelle der Nukleolen farblose Stellen aufwiesen. Auch verletzte Kerne kamen vor, sie färbten sich in Essigkarmin ebenso wie die intakten. Außer diesen „normalen“ Kernen waren auch die bekannten unregelmäßig gestalteten Endospermkerne vorhanden.¹⁾

Bei der Untersuchung in 2prom. Salzsäure besaßen die freien, normalen Kerne in ihren Granulationen das glänzende, scharf umschriebene Aussehen, wie es für die chromatischen Teile der Zellkerne nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure vielfach beschrieben worden ist.

Die vom Bodensatz abgehobene Flüssigkeit wurde nach Osborne's Vorgang mit reinem Kochsalz gesättigt und dann mit Essigsäure stark angesäuert. Es bildete sich ein voluminöser, weißer Niederschlag, entsprechend dem Ausgangsmaterial für die Nukleinsäure-darstellung Osborne's. In diesem Niederschlage konnten kernartige Bestandteile nicht aufgefunden werden, Stärke war in geringer Menge vorhanden. Demnach dürften ganze Kerne nicht in Osborne's Niederschläge hineingeraten sein, wohl aber können sie Plasmatrümmer und sehr kleine Kerntrümmer, welche sich mikroskopisch nicht als solche haben erkennen lassen, enthalten haben, und es ist ferner möglich, daß die Substanz solcher Trümmer an der Zusammensetzung der aus den Niederschlägen erzielten Nukleinsäurepräparate beteiligt war. Daß durch die Wasserbehandlung das Chromatin der Zellkerne gelöst und aus dieser Lösung dann etwa die Tritikonukleinsäure gewonnen worden sei, ist nach den obigen Ergebnissen nicht anzunehmen, namentlich nicht, wenn man sich von der Art der Wasserwirkung auf Embryonalschnitte durch mikroskopische Beobachtung überzeugt hat.

Untersucht man einen frischen Schnitt aus dem Embryonalgewebe trocken, so erscheinen die Kerne glänzend, homogen. Auf Zusatz von destilliertem Wasser quellen sie momentan, so daß man von Flüssigkeit erfüllte Räume an ihrer Stelle im Zellprotoplasma

¹⁾ E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895, Ergänzungsband, Bd. 81 p. 231.)

zu sehen glaubt. Zahlreiche quellende Kerne treten aus den Zellen des Schnittes, von körnigem Zellinhalt umgeben, in das Wasser aus, ihre Abgrenzung gegen dieses zeichnet sich nun lediglich durch die ihrer Peripherie anhängenden Körnchen ab. Setzt man dann, nachdem der Schnitt 24 Stunden in Wasser gelegen hat, Essigkarmin hinzu, so geht die Quellung der Kerne zurück und sie färben sich in üblicher Weise.

Das Chromatin wird den Kernen nicht in wässriger Lösung entzogen. Auch nach längerer Einwirkung des Wassers tritt es in anscheinend unveränderter Menge und Gestalt wieder zutage, sobald die aufgequollenen Kerne mit Essigkarmin oder auch mit 2 prom. Salzsäure behandelt werden. Auch das Zellplasma wird, jedenfalls der Hauptmasse nach, durch Wasser nicht gelöst (vgl. den Abschnitt über mikrochemische Arbeiten).

Es bleibt somit fraglich, welchen Bestandteilen des Zellinhalts Osborne's Nukleinsäurepräparate entstammten.

Die in einer Arbeit von Nasmith¹⁾ enthaltenen Angaben über die Herkunft von Nukleinen, welche seinen Weizenglutenpräparaten beigemischt waren, aus Kernen, beruhen auf der Anwendung anfechtbarer Methoden für den mikrochemischen Nachweis von Eisen und Phosphor nach Macallum (vgl. die Besprechung dieser Methoden weiter unten).

Überhaupt bietet die umfangreiche Literatur über die aus Pflanzensamen dargestellten Eiweißkörper noch keine hinreichenden Anhaltspunkte für die Behandlung der Frage, inwieweit den gewonnenen Präparaten etwa Beziehungen zu Protoplasma und Zellkern zukommen.

Auch die Beziehungen des Nukleohistons von Lilienfeld²⁾ zu bestimmten Teilen der Zelle sind nicht hinreichend geklärt.

Lilienfeld erhielt durch Extraktion mit 10proz. Kochsalzlösung aus Leukocyten der Thymusdrüse und Ausfällung mit Wasser ein in verdünnten Säuren und Alkalien lösliches Nukleoprotein. „Löst man diese Substanz, frisch gefällt, in 0,1—0,3proz. Salzsäure und unterwirft sie der Einwirkung künstlichen Magensaftes bei Körpertemperatur, so entsteht ein Niederschlag, welcher in verdünnten Säuren unlöslich, in kaustischen und kohlensauren Alkalien leicht löslich ist.“ „Schüttelt man die Leukocyten oder die ganz fein zerhackten Thymusdrüsen mit Wasser, so geht ein Körper in Lösung, welcher die Hauptmasse des Leukocytenkerns ausmacht,“ das Nukleohiston.

¹⁾ Nasmith, The chemistry of wheatgluten. (Transactions of the Canadian Institute, Vol. VII, 1904, p. 506.)

²⁾ Lilienfeld, Zur Chemie der Leukocyten. (Ztschr. f. physiol. Chemie, 1893.)

Das aus dem Kochsalzextrakt gewonnene Nukleoproteid schreibt Lilienfeld dem Cytoplasma zu. Mit Recht bemerkt indessen Malengreau¹⁾: „Il faut reconnaître que Lilienfeld a signalé dans son travail l'existence d'un nucléoprotéide dans le cytoplasme des cellules (nous ignorons ce qui l'autorise à faire cette distinction), qui serait insoluble dans l'eau, comme les globulines, et contiendrait 0,43 % P. Même plus tard, quand il décrit la nucléohistone, il la considère toujours comme un produit unique, avec lequel l'autre protéide n'aurait aucun rapport. Il nous semble pourtant que, d'après son mode d'extraction, il devait craindre que ce nucléoprotéide du cytoplasme ne fût mélangé à sa nucléohistone des noyaux.“

Berücksichtigt man die Resultate mikrochemischer Untersuchungen (vgl. den entsprechenden Abschnitt), so erscheint es durchaus wahrscheinlich, daß die aus kernhaltigen roten Blutkörperchen und aus Eiterzellen dargestellten Nukleinpräparate nicht lediglich Kernsubstanzen enthalten haben. Zweifelhaft bleiben die Beziehungen der Hefenukleinpräparate zu den morphologischen Bestandteilen der Hefezelle.

Selbstverständlich haben die in der lebenden Zelle vorhandenen Stoffe bei der Darstellung der von den verschiedenen Forschern gewonnenen Präparate Veränderungen erlitten, es bleibt aber auch sehr schwierig, über die Beziehungen der von verschiedenen Seiten aus denselben Materialien erzielten Präparate zueinander ein sicheres Urteil zu gewinnen, da die Darstellungsmethoden vielfach voneinander abweichen.

Die einzigen Untersuchungen, welche einen klaren Einblick in die Herkunft der gewonnenen Präparate bieten, sind diejenigen von Miescher über das Lachssperma in der nachträglichen Bearbeitung von Schmiedeberg und die sich hieran anschließenden Arbeiten anderer Forscher über tierische Spermatozoen. Diese Untersuchungen²⁾ bieten die Möglichkeit zu weiterem Eindringen in das vorliegende Arbeitsfeld.

Miescher trennte die Köpfe der Lachsspermatozoen von den Schwänzen durch Centrifugieren unter mehrfach erneuertem Wasser-

¹⁾ Malengreau, Deux nucléoalbumines et deux histones dans le Thymus. (La Cellule, T. 17, 1900, p. 348.)

²⁾ Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch von F. Miescher, nach den hinterlassenen Aufzeichnungen und Versuchsprotokollen des Autors bearbeitet und herausgegeben von O. Schmiedeberg. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 37 p. 100, 1896. Abgedruckt in den histochemischen und physiologischen Arbeiten von Friedrich Miescher gesammelt und herausgegeben von seinen Freunden, 2. Bd., p. 359, Leipzig 1897.) R. Burian, Chemie der Spermatozoen. (Ergebnisse der Physiologie, 3. Jahrg., 1. Abt., Biochemie, 1904 und 5. Jahrg., 1. u. 2. Abt., 1906.)

zusatz. Das Wasser löste die Schwänze und Mittelstücke auf, das Sediment bestand schließlich aus absolut rein und glatt isolierten Köpfen. Nach Schmiedeberg's Berechnung entfallen an Substanz ca. 76 Proz. auf die Köpfe und 24 Proz. auf die Schwänze. Die Menge des durch Alkoholäther aus den Köpfen extrahierbaren Fettes war so gering, daß sie auf eine leichte Verunreinigung der Köpfe mit Resten der fettreichen Schwänze bezogen werden kann.

Aus den lufttrockenen, entfetteten Köpfen erhielt Miescher durch Salzsäureextraktion Protamin (Salmin) und 2,53 Proz. anderweitige, vorwiegend anorganische Substanzen. Aus dem Alkaliextrakt der protaminfreien Köpfe konnte dann durch alkoholische Salzsäure Nukleinsäure ausgefällt werden. Der Nukleinsäuregehalt der entfetteten Köpfe ist auf Grund von Erwägungen, deren Wiedergabe hier zu weit führen würde, zu 59,83 Proz. berechnet worden, der Salmingehalt zu 37,09 Proz. und der Gehalt der Köpfe an neutralem Salminnukleinat zu ca. 95 Proz. (Burian, l. c. 1906, p. 804—807).

Die Extraktion der entfetteten Köpfe mit Salzsäure und darauf mit Natronlauge ergab stets noch einen Rückstand, welcher eisenhaltig war. Manches deutet darauf hin, daß in dem Rückstande ein eisenreicher Eiweißkörper vorkommt.

Aus der wässerigen Lösung der Schwänze und Mittelstücke wurden 42 Proz. Eiweiß und 58 Proz. ätherlösliche Stoffe gewonnen. Diese Stoffe bestanden zur Hälfte aus Lecithin, außerdem war ölsäurereiches Fett und Cholesterin vorhanden.

Die Ergebnisse der makrochemischen Untersuchung anderer tierischer Spermatozoen faßt Burian (1906, p. 802) folgendermaßen zusammen: „In den Spermatozoenköpfen aller Tiere sind sehr reichlich Nukleoproteide enthalten, die aus einer Nukleinsäure und einem Eiweißanteil bestehen.“ Während in den Spermatozoenköpfen zahlreicher Tiere die gleiche Nukleinsäure vorzukommen scheint, variieren die Eiweißanteile bei den verschiedenen Tieren sehr erheblich. Wie alle anderen Nukleinsäuren, so sind auch diejenigen der reifen Samenzellen amorphe, in Wasser wenig lösliche Substanzen, die sich in Alkalien leicht lösen. Sie lassen sich aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure, nicht aber durch Essigsäure ausfällen. Die Nukleinsäuren zeigen nicht die Farbenreaktionen der Eiweißkörper. Sie geben mit Protaminen und Lösungen echter Eiweißkörper Fällungen (Burian 1904, p. 77).

Bei zahlreichen Fischarten und beim Seeigel lassen sich aus den Köpfen der reifen Samenzellen durch sehr verdünnte Säure basische Stoffe von eiweißartiger Beschaffenheit extrahieren. Die Spermatozoen anderer Tiere zeigen jedoch ein abweichendes Verhalten.

Bezüglich der Schwänze liegen, abgesehen vom Lachs, ausführliche Angaben von Mathews über den Hering und Seeigel vor.

Beim Hering bestehen ähnliche Verhältnisse wie beim Lachs, während bei Arbacia das Alkoholätherextrakt eine abweichende Zusammensetzung hat.

Die Spermatozoen des Stieres isolierte Miescher¹⁾ durch Ausspülen derselben aus den zerlegten Organen mittels destilliertem Wasser, Zusatz einiger Tropfen Essigsäure und Abfiltrieren. Aus isolierten, frisch mit großen Mengen von 0,1 proz. Salzsäure behandelten Samenfäden konnte Miescher 7,3 proz. Eiweiß (auf fettfreie Gesamtsubstanz berechnet) extrahieren. „Dieser Eiweißkörper stammte vermutlich aus den Köpfen, deren Mittelfeld sich deutlich aufgehellt hatte. Vermutlich waren auch die Schwänze nicht ganz unbeteiligt, die unter geringer Quellung sichtlich etwas schwächer lichtbrechend wurden.“

Durch Extraktion entfetteter Samenfäden mit verdünnter Salzsäure konnte weder Protamin noch eine „andere dasselbe vertretende organische Base“ gewonnen werden.

Zur Darstellung des Nukleinkörpers wurde das Sperma durch Behandlung mit künstlichem Magensaft vorbereitet. Dabei wurden die Schwänze in der Regel vollständig gelöst, während die Köpfe „in der Form recht wohl erhalten“ blieben. Der Verdauungsrückstand wurde in warmer Natronlauge gelöst und darauf das Nuklein mit geringem Salzsäureüberschuß ausgefällt. Die Fällung kann im Gegensatz zum Lachsnuklein ohne Alkoholzusatz gut ausgefällt und ausgewaschen werden, ohne in reinem Wasser zu quellen. Ihre Reaktionen zeigen übrigens bemerkenswerte Übereinstimmungen mit Lachsnuklein. Frisch gefällt ist das Stiernuklein leicht löslich in Sodalösung und in Ammoniak, wird aber beim Stehen bald wieder schwer löslich. Miescher vermutet, daß $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ des Kopfes aus Nuklein bestehen. Nach der Ausfällung des Nukleins wurden im sauren Filtrat Eiweißkörper nachgewiesen (etwa $\frac{1}{3}$ des erhaltenen Nukleins).

Über die Spermatozoen des Ebers berichtet Mathews²⁾: „In Ebersperma war kein Protamin nachzuweisen. Mit Schwefelsäure ausgezogen lieferte es nur Spuren eines Eiweißkörpers, welcher ausfällt, wenn die saure Lösung neutral gemacht ist. Dieser Körper besitzt keine der fällenden Eigenschaften des Histons oder Protamins.“

¹⁾ F. Miescher, Die Spermatozoen einiger Wirbeltiere. (Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel, VI. Heft, I, 1874.)

²⁾ Mathews, Zur Chemie der Spermatozoen. (Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 23, 1897.)

Untersuchungen über eisenhaltige Proteinstoffe.

Daß Eisen im tierischen Organismus in organischer Bindung vorkommt, ist schon seit langer Zeit bekannt.

Historische Angaben über die ältere Literatur des Blutfarbstoffes, in welchen namentlich der Eisengehalt berücksichtigt wird, finden sich bei Berzelius¹⁾ und ferner besonders bei Le Canu.²⁾ Berzelius betont, „daß keines unserer gewöhnlichen und für die Eisenoxyde empfindlichsten Reagentien, wie Blutlaugensalz, Galläpfelsäure, Gerbstoff mit dem Farbstoff die geringste Reaktion, die einem Eisengehalt darin zugeschrieben werden konnte, hervorbrachte“. Nur nach der Zerstörung des Blutfarbstoffes konnte Eisen nachgewiesen werden.

Dementsprechend sagt Mulder³⁾: „Ferner ist das Eisen so innig mit den vier organischen Elementen des Farbstoffes verbunden, daß man gut bereiteten Farbstoff viele Tage lang mit verdünnter Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure digerieren kann, ohne den Eisengehalt im mindesten zu verringern.

Es ist also unrichtig, anzunehmen, daß man das Eisen aus dem Blute wegnehmen kann, ohne zugleich die Natur des Farbstoffes zu verändern.“

Das Resultat der zu seiner Zeit vorliegenden Forschungen hat Simon⁴⁾ folgendermaßen dargestellt: „Was indessen vielmehr für die Ansicht spricht, daß das Eisen mit der organischen Materie nicht als oxyd, sondern sauerstofffrei verbunden sei, sind die Analogien, die wir durch Mulder's Untersuchungen im Albumin und Fibrin und die wir in den Couërbe'schen Gehirnsubstanzen kennen; alle diese Stoffe enthalten Phosphor und die ersten beiden auch Schwefel, welche Bestandteile sich nicht durch die gewöhnlichen Reagentien auf Phosphorsäure oder Schwefelsäure entdecken lassen, sondern vielmehr als Elementarstoffe mit der organischen Substanz vereinigt sind. Auf ähnliche Weise sich das Eisen in Hämatin zu denken, hat viel für sich und kann gebilligt werden.“

Daß, abgesehen vom Blute, im tierischen Organismus Verbindungen des Eisens und zwar mit Eiweißstoffen nach bestimmten

¹⁾ Berzelius, Lehrbuch der Chemie, Bd. 4, 1. Abt. Lehrbuch der Tierchemie, übersetzt von Wöhler, 1831, p. 57.

²⁾ Le Canu, Etudes chimiques sur le sang humain. Thèse présentée à la faculté de médecine de Paris le 23 nov. 1839 pour obtenir le grade de Docteur en Médecine.

³⁾ Mulder, Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie. Bd. 1. Deutsche Ausgabe, Braunschweig 1844—51, p. 349.

⁴⁾ Simon, Handbuch der angewandten medizinischen Chemie. 1. Tl., p. 318, Berlin 1840.

Proportionen entstehen können, hat bereits Mitscherlich¹⁾ angegeben. In seiner Arzneimittellehre sagt er u. a.: „Die Eisensalze, welche man anwendet, wirken chemisch auf den tierischen Organismus ein, indem dieselben sich mit dem Eiweißstoffe, dem Speichelstoffe, dem Käsestoffe usw. nach bestimmten Proportionen verbinden.“ „In diesen Verbindungen der Eisensalze mit den organischen Stoffen kann man das Eisen nicht durch die gebräuchlichen Reagentien nachweisen. Die Auflösung eines Eisenoxysalzes z. B., welches mit dem Eiweißstoffe verbunden ist, gibt beim Zusatz von kaustischem Kali kein Eisenoxydhydrat, sondern eine vollkommen klare braune Auflösung.“

Auf die Wahrscheinlichkeit eines Vorkommens organischer Eisenverbindungen im Pflanzenreich, welche für die Bildung des Hämoglobins in Frage kommen könnten, hat schon Donders²⁾ hingewiesen, indem er ausführt:

„Aan welke stoffen in het plantenrijk het ijzer gebonden zij, moge onbekend wezen, schier elke plantenasch levert er sporen van, en het ijzergehalte van het bloed der plantetende dieren is geheel en al aan de plantenwereld ontleend. Gewichtig ware het zeker de organische stoffen op te sporen waarmede dit ijzer in de planten voorkomt, waar het zich aan alle reactieven onttrekt, gewichtig vooral met het oog op de vorming van haematine in het dierlijk organisme.“

Später hat dann Bunge³⁾ ein eisenhaltiges Nuklein aus dem Dotter von Hühnereiern gewonnen.

Nach der Extraktion des Dotters mit Alkohol und Äther konnte aus demselben durch salzsauren Alkohol kein Eisen extrahiert werden, während man in Eiweißniederschlägen, welche bei ihrer Bildung etwas künstliches Eisenalbuminat oder phosphorsaures Eisenoxyd eingeschlossen haben, die kleinste Spur Eisen durch Extraktion mit salzsäurehaltigem Alkohol und Zusatz von Schwefelammonium zum Extrakte nachweisen kann.

Den Rückstand der Alkoholätherextraktion des Dotters löste Bunge in 1 prom. Salzsäure zu einer opalisierenden Flüssigkeit. Sie wurde filtriert und das Filtrat mit künstlichem Magensaft (2,5 prom. HCl) bei Körpertemperatur behandelt. Es setzte sich nun ein Nieder-

¹⁾ Mitscherlich, Lehrbuch zur Arzneimittellehre. Berlin 1837, 1. Bd., p. 145, 297.

²⁾ F. C. Donders, De Voedingsbeginselen. Grondslagen eener algemeene voedingsleer, 1852, p. 63. Citirt nach Woltering. Over de resorptie van ijzerzouten in het spijsverteringskanaal. Diss. Utrecht. 1895.

³⁾ Bunge, Über die Assimilation des Eisens. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Vol. IX, 1885.) Hinsichtlich mikrochemischer Untersuchungen der Dotterkörper, verglichen mit den Resultaten makrochemischer Forschung siehe E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen (Bot. Ztg., 1887, S.-A. p. 8) und Macallum, Iron compounds. (Quart. Journ. Micr. Sci., Vol. 38, N. S., p. 215.)

schlag zu Boden, der fast sämtliches Eisen des Dotters enthielt. Setzte man zu einer wässerigen ammoniakalischen Lösung des Niederschlages, welche nahezu farblos war, einen Tropfen Schwefelammonium, so trat zunächst nicht die geringste Farbenveränderung ein. Erst nach Verlauf einer halben Stunde zeigte sich eine ganz schwache Grünfärbung, welche sehr allmählich, im Laufe mehrerer Stunden, in ein intensives Dunkelgrün überging, bis schließlich am folgenden Tage die Flüssigkeit fast vollkommen schwarz und undurchsichtig war. Die Farbenveränderung vollzog sich um so schneller, je größer die Menge des zugesetzten Schwefelammoniums war. Die Abspaltung des Eisens aus einer ammoniakalischen Eiweißlösung, welche nur eine ganz geringe Menge künstlichen Eisenalbuminats neben viel Eiweiß enthielt, erfolgte sehr rasch. Auf Zusatz von einem Tropfen Schwefelammon trat fast augenblicklich Grünfärbung ein.

Aus dem eisenhaltigen Magensaftniederschlage konnte auch durch konzentrierte Salzsäure Eisen abgespalten werden. Setzte man zur ammoniakalischen Lösung des Niederschlages etwas Ferrocyankalium und übersättigte mit Salzsäure, so fiel zunächst ein weißer Niederschlag heraus, welcher sich allmählich blau färbte, um so rascher, je größer der Salzsäureüberschuß und je konzentrierter die Salzsäure war. Setzte man zur ammoniakalischen Lösung Ferridcyankalium und darauf Salzsäure, so blieb der herausfallende Niederschlag weiß, das Eisen wurde also als Oxyd abgespalten.

Wenn früher die Nukleine eisenfrei gefunden wurden, so ist das nach Bunge vielleicht dem Umstande zuzuschreiben, daß dieselben zum Zwecke ihrer Reindarstellung wiederholt in Alkalien gelöst und mit Säuren gefällt wurden. Hierbei spaltet sich das Eisen als Oxyd ab. Die organische Eisenverbindung verträgt nur die Auflösung in Ammoniak und darf mit Säuren nur bei Gegenwart von Alkohol behandelt werden. Der Alkohol als wasserbindendes Mittel verhindert die hydrolytische Abspaltung des Eisenoxys.

In der Folge haben auch Hugounenq und Morel¹⁾ das eisenhaltige Nuklein Bunge's (Hämatogen) dargestellt und nach Möglichkeit von jeder Spur von Albumin und Fett befreit. Das gewonnene Präparat war folgendermaßen zusammengesetzt:

C	43,5
H	6,9
N	12,6
P	8,7

¹⁾ Hugounenq et Morel, Recherches sur l'hématogène. (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris 1905, T. 140 p. 1065.) Über eisenhaltige, aus Eiern verschiedener Herkunft gewonnene Vitelline vgl. übrigens Hammarsten, Lehrbuch der Physiologischen Chemie, 1907, p. 504.

Fe	0,455
Ca	0,352
Mg.	0,126
S	Spuren
O	27,367

Von verschiedenen Seiten sind eisenhaltige Proteinstoffe aus der Leber dargestellt und eingehender untersucht worden.

Zaleski¹⁾ gewann solche Stoffe aus den Lebern verschiedener Tiere. „Wie bekannt, sagt Zaleski, geben gelbes und rotes Blutlaugensalz und Rhodankalium nur mit anorganischen Eisenverbindungen eine unmittelbare Reaktion, mit organischen aber nur bei Gegenwart freier Salzsäure und zwar, wie ich es ermittelte, in einer stärkeren Konzentration als 1 prom.

Tannin und Salicylsäure geben überhaupt nur mit anorganischen Eisenverbindungen eine Reaktion.

Nur das Schwefelammonium allein kann man als das universellste Eisenreagens betrachten, weil es ebenso mit den organischen (falls diese letzten nicht besonders fest sind) wie anorganischen, wie bei jeder Oxydationsstufe des Eisens eine sichere Reaktion gibt.“

Die makroskopische Untersuchung auf Eisen an erbsengroßen, abgerissenen Leberstücken führte zu folgenden Ergebnissen:

„1. Alle Lebern ohne Ausnahme geben mit Schwefelammonium eine sichere, positive Eisenreaktion, die entweder in einer unmittelbar schwarzen, diffusen, oder in einer grünlichen, diffusen, allmählich schwarz werdenden Verfärbung sich äußerte.

2. Keine der untersuchten Lebern gab mit Ferro-Ferridcyanalkalium und Rhodankalium allein, sowie mit Salicylsäure und Tannin die geringste Reaktion.

3. Alle gaben ohne Ausnahme mit Ferrocyanalkalium und Rhodankalium nach der nachträglichen Behandlung mit mehr als 1 prom. Salzsäure eine positive Reaktion, und zwar für Ferrocyanalkalium — eine dauernde, diffuse, blaue, für Rhodankalium — eine vorzügliche, diffuse, rote Verfärbung.

4. Von den 23 untersuchten Lebern gaben nur 11, also 47,8 Proz., eine Reaktion mit Ferridcyanalkalium und Salzsäure (diffuse, bläuliche, zuweilen deutlich blaue Verfärbung).

Also in allen untersuchten Lebern konnte die Gegenwart des Eisens durch die obengenannten Reagentien unmittelbar nachgewiesen werden; in allen war das Eisen ausschließlich in organischen Verbindungen enthalten; in allen konnten die Oxydverbindungen, aber nur in 47,8 Proz. auch die Oxydulverbindungen nachgewiesen werden.“

¹⁾ Zaleski, Studien über die Leber. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, X, 1886.)

Die Untersuchung der Lebern mit Bunge'scher Flüssigkeit (10 Vol.-Proz. 25proz. HCl + 90 Vol.-Proz. 96proz. Alkohol) ergab, daß aus einem Teil der Lebern sich Eisen extrahieren ließ, aus anderen Lebern aber nicht, und zwar kamen bei Lebern derselben Tierspecies Verschiedenheiten vor.

„Aus jeder der von mir untersuchten Lebern wurden im Alkohol gehärtete Stücke in einem Porzellanmörser möglichst sorgfältig zerrieben, mehrmals mit absolutem Alkohol ausgewaschen und der Filterrückstand beim häufigen Umrühren, mindestens 30–40 Stunden, der Einwirkung der Bunge'schen Flüssigkeit ausgesetzt, dann filtriert und das Filtrat mit Rhodankalium, gelbem und rotem Blutlaugensalz und Schwefelammonium auf Eisen geprüft. Es ist selbstverständlich, daß ich bei Anwendung des Schwefelammoniums die Probe früher mit Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaktion neutralisierte.“

„Um zu erfahren, wie sich der Rückstand nach der Extraktion mit Bunge'scher Flüssigkeit zu neuer Portion derselben Flüssigkeit verhält, habe ich die Leber nacheinander mit immer erneuerten Portionen behandelt und mich überzeugt, daß auch nach zehnmaliger Erneuerung bei gewöhnlicher und erhöhter Temperatur und mindestens 24stündlicher Dauer jeder Extraktion das letzte Filtrat noch immer eisenhaltig war. Wenn ich aber den Filtrerrückstand von der letzten Bunge'schen Flüssigkeit mit einer neuen Portion derselben stundenlang kochte, so enthielt die abfiltrierte Flüssigkeit Eisen, der Rückstand aber, der dann eine sulzige Beschaffenheit annahm, zeigte bei unmittelbarer Prüfung eine stärkere Eisenreaktion wie vor dem Kochen.“

Ob das letztere Verfahren etwa auch auf die Lebern angewendet worden ist, von denen Zaleski angibt, sie hätten an Bunge's Flüssigkeit kein Eisen abgegeben, erhellt nicht aus den Mitteilungen des Autors.

In Anlehnung an die Untersuchungen von Plósz¹⁾ gewann Zaleski verschiedene Eiweißstoffe aus der Leber und prüfte dieselben dann auf ihren Eisengehalt.

Die Lebern wurden zunächst zur Entfernung des Blutes durchspült. Wurde die Durchspülung dann noch weiter fortgesetzt, so konnten aus der Spülflüssigkeit eisenhaltige Eiweißstoffe gewonnen werden.

Darauf wurden die Lebern zerrieben, in Leinwand eingeschlagen und unter Wasser ausgeknetet. Die erhaltene Flüssigkeit enthielt eisenhaltige Eiweißstoffe.

¹⁾ Plósz, Über die eiweißartigen Substanzen der Leberzelle. (Pflüger's Archiv, 1873, Bd. VII S. 371.)

Von der Flüssigkeit wurden die beim Kneten in diese übergegangenen zelligen Elemente durch Abgießen gesondert und mit Wasser völlig ausgewaschen. Der zellige Rückstand war eisenhaltig.

Die mit Wasser erschöpfte Zellenmasse wurde nun mit 0,75proz. Kochsalzlösung erschöpft. Dabei gingen eisenhaltige Eiweißstoffe in Lösung. Auch im Rückstand war Eisen nachzuweisen.

„Nach der gänzlichen Erschöpfung durch Kochsalzlösung zeigte der Rückstand bei der unmittelbaren Untersuchung weder makro- noch mikroskopisch bemerkbare Reaktionen. Die Bunge'sche Flüssigkeit entzieht ihm dennoch nach einigen Tagen wenn auch nur kleine Eisenmengen. Der genannte Rückstand zeigte sich unter dem Mikroskop als aus stark veränderten, geschrumpften Zellen bestehend, deren Kerne jedoch die Karmintinktion noch annahmen.“

Der mit Wasser und Kochsalz erschöpfte Rückstand wurde der künstlichen Verdauung ausgesetzt. Verwendet wurde Auszug aus Schweine- oder Kalbsmagenschleimhaut mit 2,5prom. HCl.

In dem Magensaft ließ sich direkt kein Eisen nachweisen, die Asche enthielt kaum bestimmbare Mengen. Dieser Magensaft wirkte bei 38—40° C auf die Leberückstände ein, und zwar wurde die Verdauungsflüssigkeit mehrfach erneuert, bis in ihr Peptone nicht mehr nachzuweisen waren. Dabei konnte erkannt werden, daß eisenhaltige Substanzen in den Magensaft übergingen.

Der sorgfältig mit 1prom. Salzsäure ausgewaschene Verdauungsrückstand zeigte keine Eisenreaktion und gab an Bunge'sche Flüssigkeit auch nach zweiwöchentlicher Extraktion kein Eisen ab.

Der Rückstand wurde mit Äther erschöpft. In der Asche eines Teiles desselben konnte nun Eisen nachgewiesen werden. In H_3N ist der Rückstand bei gewöhnlicher Temperatur teilweise löslich. Das Filtrat dieser Lösung gibt mit 4 Vol. absol. Alkohol einen Niederschlag, der nach sorgfältigem Auswaschen mit Alkohol kein Eisen an Bunge'sche Flüssigkeit abgibt. Auch durch unmittelbare Anwendung „der bekannten Reagentien läßt sich in ihm kein Eisen nachweisen“. Wohl aber ist seine Asche eisenhaltig. Zaleski nennt den Körper „Hepatin“ und stellt ihn hinsichtlich der Festigkeit der Eisenbindung dem Hämoglobin an die Seite.

Von den Ergebnissen, welche Zaleski am Schlusse seiner Arbeit zusammenstellt, mögen die folgenden hier hervorgehoben werden: Das Eisen findet sich in der Leber nur in organischen Verbindungen. Die durch Wasser und Kochsalz extrahierten Stoffe „können von den sog. Albuminaten nicht verschieden sein“. Außer diesen enthält die Leber eisenhaltige Nukleoverbindungen. Davon lassen sich mindestens drei unterscheiden: 1. das Hepatin; 2. die Substanz, aus welcher das Hepatin gewonnen werden kann; 3. ein Nuklein, welches man erhalten kann, indem man aus einer vom Blute gänzlich befreiten

Leber die isolierten Zellen direkt der Verdauung aussetzt. Dann „bleiben als Rückstand nach der Peptonisation aller Eiweißstoffe Nukleine übrig, in welchen jedoch die Gegenwart des Eisens sich durch die bekannten Reagentien nachweisen läßt“.

Eisenhaltige Proteinstoffe sind aus der Leber ferner dargestellt worden von Knüpfker, Schmiedeberg, Spitzer, Beccari u. a. Knüpfker fand Eisen im Cytoglobin und Cytin (vgl. weiter oben p. 83).

Schmiedeberg hat aus Lebern einen eisenhaltigen Protein-stoff gewonnen und diesen zu künstlich dargestellten „Ferrialbuminsäuren“ in Beziehung gesetzt.

„Wenn man¹⁾ tierische oder pflanzliche Eiweißstoffe (sagt Schmiedeberg) mit Alkalien bis zur Siedetemperatur erhitzt, so tritt bekanntlich keine Gerinnung ein, sondern es entstehen die sog. Alkalialbuminate. Auf Zusatz von Säuren zu den Lösungen der letzteren wird eine eigenartige Eiweißsubstanz ausgefällt, die einen ausgesprochen sauren Charakter hat und deshalb Albuminsäure genannt werden kann. Diese Säure verbindet sich mit Basen wieder zu löslichen und unlöslichen Albuminaten. Wenn man eine möglichst neutrale Lösung von Kaliumalbuminat mit einem neutralen Eisen-oxydsalze versetzt, so entsteht ein Niederschlag, der aus Eisenalbuminat besteht. Das letztere ist eine salzartige Verbindung der Albuminsäure mit Eisen, die sich in Alkalien zu Doppelverbindungen auflöst. In diesen Lösungen bringt Schwefelammonium wie in denen der gewöhnlichen Eisensalze sofort eine intensive Schwarzfärbung hervor“.

Aus dem Eisenalbuminat können dann Verbindungen mit fester gebundenem Eisen: Ferrialbuminsäuren gewonnen werden.

Derartige Körper wollen Marfori und Schmiedeberg aus der Leber erhalten haben. Letzterer hat die aus der Leber dargestellten „und die derselben entsprechende Form der künstlichen Ferrialbuminsäure“ unter dem Namen „Ferratin“ zusammengefaßt.

Das natürliche Ferratin erhielt Schmiedeberg aus Schweinslebern durch Behandlung mit Wasser in der Wärme, Filtrieren und Ausfällen mit Weinsäure. Nukleinverbindungen sollen nach Schmiedeberg bei seinem Verfahren nicht in die wässrige Lösung übergehen.²⁾

¹⁾ Schmiedeberg, Über das Ferratin und seine diätetische und therapeutische Anwendung. (Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 33, 1894, p. 102.) Vgl. ferner Vay, Über den Ferratin- und Eisengehalt der Leber. (Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 20, 1895.)

²⁾ Vgl. auch die eingehenderen Angaben hinsichtlich der Darstellung bei Marfori. (Sulla Ferratina. Annali di Chimica e di Farmacologia, Vol. XIX p. 81, Bologna 1894.)

Woltering¹⁾ erhielt aus Lebern außer dem Ferratin ein Nukleoprotein, in welchem das Eisen fest gebunden und „ohne Zerstörung des Stoffes“ (Verbrennen) nicht nachweisbar war.

Spitzer²⁾ stellte aus der Leber des Hundes und Pferdes durch Extraktion mit Wasser und Ausfällen mit verdünnter Essigsäure ein Nukleoprotein dar. Dasselbe enthielt Eisen, welches nur nach Veraschung nachgewiesen werden konnte. „Es gab in starker Salzsäure gelöst weder mit Rhodankalium, noch mit Ferro- oder Ferridcyankalium irgendwelche Reaktion. Desgleichen nicht durch Kochen mit KOH aufgeschlossen. Selbst nach 24stündigem Stehen in ammoniakalischer Lösung mit Schwefelammonium behandelt, erfolgte keine Schwarzfärbung. Auch an das Bunge'sche Reagens wurde Eisen nicht abgegeben, selbst nach mehrstündiger Behandlung bei siedender Temperatur.“ Aus den mit Wasser erschöpften Zellresten der Leber erzielte Spitzer durch Behandlung mit sehr verdünnten Soda- und Ammoniaklösungen Extrakte, welche mit verdünnten Mineralsäuren Fällungen ergaben. Diese hinterließen „bei der Verdauung mit HCl-Pepsin einen unlöslichen, phosphorhaltigen Rückstand“. Er enthielt nur in der Asche nachweisbares Eisen.

Eisenhaltige Nukleoproteide wurden ferner gewonnen durch Extraktion mit Wasser aus dem Pankreas des Rindes, den Nieren des Schweines, den Hoden des Stieres, aus Thymus.

Den Arbeiten von Schmiedeberg, Zaleski u. a. gegenüber betonte Beccari, daß die organischen Eisenverbindungen der Leber (Ferratin, Hepatin usw.) chemisch noch sehr unvollständig untersucht worden seien.

Nach Beccari³⁾ unterscheiden sich das natürliche und künstliche Ferratin sehr wesentlich voneinander. Das natürliche Ferratin der Leber, wie es von Schmiedeberg gewonnen wurde, enthält außer dem Eisen auch Phosphor; es läßt sich aus ihm durch Pepsinverdauung ein Körper gewinnen, in dessen Zersetzungsprodukten Substanzen mit den Reaktionen von Xanthin, Hypoxanthin und Guanin auftraten.

„On peut donc affirmer que la substance extraite du tissu hépatique par la décoction simple, et qu'on appelle ferratine, a une composition très complexe, qui la distingue absolument d'un simple albuminate ou d'une protéine quelconque; sa composition est caractérisée par la présence d'acide phosphorique en combinaison organique

¹⁾ Woltering, Über die Resorbierbarkeit der Eisensalze. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 21, 1895/96.)

²⁾ Spitzer, Die Bedeutung gewisser Nukleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. (Pflüger's Archiv, Bd. 67, 1897.)

³⁾ Beccari, Sur les composés organiques de fer du foie. (Archives italiennes de Biologie, Turin 1902, T. XXXVIII.)

et de bases xanthiniques en un groupe nucléinique séparable au moyen de la digestion pepsinique.“

Aus Hundeleber stellte Beccari Nukleoproteid auf folgende Weise her: Blutfreie Leber wurde fein zerteilt und mit kaltem Wasser behandelt. Die Lösung mit verdünnter Essigsäure gefällt. Der Leberückstand wurde darauf zweimal mit 1 prom. Sodalösung extrahiert, die erzielten Extrakte mit verdünnter Essigsäure gefällt. Durch Lösen der Niederschläge mit verdünntem Ammoniak und Ausfällen mit Essigsäure wurden sie weiter gereinigt und schließlich mit Alkohol und Äther ausgewaschen. Dauert die Alkoholbehandlung längere Zeit, so wird das Präparat unlöslich. Nach kürzerer Alkoholbehandlung ist die Substanz unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Alkalien, aus deren Lösungen sie durch verdünnte Säuren ausgefällt wird, in einem Überschuß von Essigsäure oder Salzsäure ist sie aber löslich.

Die Asche enthält Phosphor und Eisen. Die Verdauung der Substanz durch Pepsinsalzsäure erzielt einen unlöslichen, eisen- und phosphorreichen Rückstand, der sich in Alkalien löst und durch Säuren gefällt wird. „La solution qui se trouve au-dessus donne une réaction marquée du biurète (rouge violet).“

Unter den Zersetzungsprodukten des Nukleoproteids konnte Beccari Xanthinbasen nachweisen. Durch Kochen einer mit Essigsäure neutralisierten ammoniakalischen Lösung läßt sich das Nukleoproteid spalten. Es bildet sich eine Fällung. Sie ist eisenhaltig, aber phosphorfrei. Xanthinbasen bilden sich nicht bei ihrer Zersetzung.

Aus dem Filtrat der Fällung läßt sich durch verdünnte Essigsäure ein Niederschlag gewinnen, der eisen- und phosphorhaltig ist. Xanthinbasen resultieren bei seiner Zersetzung.

Beccari ist nun der Meinung, daß letzteres Produkt dem Ferratin entspricht. Das Ferratin „n'est nullement un acide ferri-albuminique, mais un produit qui contient les groupes caractéristiques des nucléines (phosphore et bases xanthiniques)“. Das Ferratin ist, seiner Darstellung nach, da es durch Erwärmen der Leber mit Wasser gewonnen wird, ein Spaltungsprodukt des Lebernukleoproteids, wie das von Beccari gewonnene Produkt.

Hinsichtlich der Präparate von Zaleski bemerkt Beccari: „Comme on le comprend, le composé de Zaleski représente, du moins en partie, la nucléine (vraie) que l'on obtient par digestion peptique du nucléoprotéide. Mais, en comparant la méthode de préparation de Zaleski avec les propriétés-générales du nucléoprotéide (extraction partielle avec de l'eau distillée) on comprend aussitôt que l'hépatine ne provient probablement que d'une partie du protéide resté insoluble dans les éléments hépatiques, et que, parmi les

albuminates solubles admis par cet auteur, doit apparaître aussi le nucléoprotéide.“

Eingehendere chemische Untersuchungen des Lebernukleoproteids sind von Wohlgemuth¹⁾ ausgeführt worden.

Das Proteid wurde durch Auskochen frischer Rinderlebern mit Wasser und Ausfällen mit verdünnter Essigsäure gewonnen.

Aus Rinderpankreas erhielt Hammarsten²⁾ durch Kochen mit Wasser und Ausfällen mit verdünnter Salzsäure oder Essigsäure ein stark eisenhaltiges Nukleoproteid. Die Muttersubstanz dieses Nukleoproteids stellte Umber³⁾ dar durch Extraktion aus Pankreas mit physiologischer Kochsalzlösung und Fällung mit ganz schwacher Essigsäure bei niederer Temperatur. Das gereinigte Präparat war eisenhaltig. Es ergab beim Kochen mit Wasser als Spaltprodukt das Nukleoproteid von Hammarsten. Von Xanthinbasen lieferte es nur Guanin. Im übrigen zeigte das Pankreasnukleoproteid Umber's folgende Eigenschaften: Es war in destilliertem Wasser unlöslich, in schwachen Sodalösungen größtenteils, in Laugen gut löslich. Beim Ansäuern wurde es wieder ausgeschieden. In schwacher Essigsäure war es unlöslich, von starker Essigsäure wurde es zum Teil gelöst und wurde durch Neutralisation wieder gefällt. In Alkohol und Ather war es unlöslich. „Bei Pepsinverdauung hinterblieb ein reichlicher, unverdaulicher Rückstand, Nuklein.“

Aus Pflanzen sind eisenhaltige Proteinstoffe dargestellt worden von Petit, Stoklasa, Suzuki, Abderhalden u. a.⁴⁾

Petit⁵⁾ untersuchte die Gerste und schloß aus den Resultaten der Verwendung von Bunge'scher Lösung, daß fast alles Eisen in der Gerste an Nukleine gebunden sei. Dieses Eisen „est contenu exclusivement dans les téguments et dans l'embryon“.

Durch Extraktion von Malz (tourillons) mit 1proz. Kalilauge bei 60° und Ausfällen mit verdünnter Salzsäure erhielt Petit⁶⁾ eine phosphor- und eisenhaltige Substanz, welche in Kochsalzlösungen quoll, in Alkalien löslich war und keine Millon'sche Reaktion gab. „En

¹⁾ J. Wohlgemuth, Über das Nukleoproteid der Leber. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 37 (1903), 42 (1904), 44 (1905) u. a. a. O.)

²⁾ Hammarsten, Zur Kenntnis der Nukleoproteide. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 19, 1894.)

³⁾ Umber, Das Nukleoproteid des Pankreas. (Zeitschr. für klinische Medizin, Berlin 1900, Bd. 40 p. 476.)

⁴⁾ Vgl. Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1 p. 248. (Jena 1904 bis 1907.) Levene, Darstellung und Analyse einiger Nukleinsäuren. (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 32, 1901.)

⁵⁾ Petit, Distribution et état du fer dans l'orge. (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris 1892, T. 115 p. 246.)

⁶⁾ Petit, Sur une nucléine végétale. (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris 1893, T. 116 p. 995.)

ajoutant à la solution ammoniacale du ferrocyanure de potassium, puis de l'acide acétique en excès, on obtient un précipité blanc, qui blenit peu à peu, d'autant plus vite que l'acide acétique est plus concentré et que la température est plus élevée; avec l'acide chlorhydrique concentré, la transformation est immédiate. Le tannin donne un précipité blanc qui noircit en chauffant."

Stoklasa¹⁾ hat aus Zwiebeln von *Allium cepa*, Samen von *Pisum sativum* und aus *Boletus edulis* nach dem Verfahren von Bunge eine eisenhaltige Substanz gewonnen, welche in ihrer Zusammensetzung dem Hämatogen Bunge's nahe steht.

Aus getrockneten, fein pulverisierten Zwiebeln von *Allium cepa* wurde das Präparat wie folgt gewonnen: Das Pulver wurde mit Äther erschöpft, getrocknet und dann mit 1 prom. Salzsäure digeriert. Die erhaltene Lösung wurde mit künstlichem Magensaft behandelt, die hierbei entstandene Fällung mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen, dann mit schwachem Ammoniak wieder aufgelöst. Die Lösung wurde filtriert, mit absolutem Alkohol gefällt und die Fällung abermals der Prozedur des AuflöSENS in Ammoniak und Fällens mit Alkohol unterworfen.

Aus Samen von *Polygonum tinctorium* und *Indigofera tinctoria* stellte Suzuki²⁾ eine eisenhaltige Substanz dar und zwar durch Extraktion mit verdünnter Kalilauge und Fällung mit Essigsäure. Bei der Einwirkung von künstlichem Magensaft wurde ein Teil des Präparates gelöst. Sowohl der lösliche wie auch der unlösliche Anteil war eisenhaltig.

Abderhalden³⁾ hat aus Spinat (durch ein ähnliches Verfahren, wie es Bunge zur Gewinnung des Hämatogens aus Eidotter anwendete) ein durch Magensaft nicht angreifbares, ziemlich eisenreiches Produkt erhalten, das ganz ähnliche Analysenzahlen wie das Hämatogen gab und sich auch nach seinen Reaktionen wie dieses verhielt.

II. Mikrochemische Untersuchungen.

In einer Reihe von Untersuchungen ist der Versuch gemacht worden, auf Grund der jeweilig vorliegenden makrochemischen Arbeiten durch mikrochemische Erforschung der einzelnen Teile der

¹⁾ Stoklasa, Fonction physiologique du fer dans l'organisme de la plante. (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris 1898, T. 127 p. 282.)

²⁾ Suzuki, On the occurrence of organic ironcompounds in plants. (The Bulletin of the College of agriculture. Tokyo imperial University, Vol. IV, 1900 —1902, p. 260.) Vgl. auch K. Aso. (Ebenda, Vol. III.)

³⁾ Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, p. 416.

Zelle ein Urteil über die Herkunft der chemisch mehr oder weniger vollständig untersuchten, aus der Zelle gewonnenen Substanzen zu erhalten. Diese Untersuchungen haben sich darauf erstreckt, erstens die Verteilung der in bestimmten Proteinstoffen nachgewiesenen Elemente Phosphor und Eisen in der Zelle zu erkennen und zweitens die Verteilung bestimmter Proteinstoffe direkt zu ermitteln. Hier ist es für die mikrochemische Charakterisierung der Stoffe nötig, eine größere Anzahl von Reaktionen, das Gesamtbild derselben, zu berücksichtigen. Auch die Vorbehandlung der Gewebe und das Verfahren bei der Anstellung der Reaktionen in allen seinen Einzelheiten ist zu beachten; wie z. B. Beschaffenheit und Säuregrad der verwendeten Verdauungsflüssigkeit, die Zeitdauer ihrer Einwirkung und die Temperatur während derselben. Es sind das freilich jedem Chemiker geläufige Dinge, die aber von den Histologen keineswegs immer beachtet werden.

Nachweis des Phosphors.

Verschiedene Autoren sind der Meinung, auf mikrochemischem Wege nachgewiesen zu haben, daß die chromatischen Teile der Zelle besonders phosphorreich seien. Lilienfeld und Monti¹⁾ brachten die Gewebsteile, die auf Phosphor geprüft werden sollten, frisch oder nach Behandlung mit Alkohol in eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat. Sind phosphorsaure Salze vorhanden, so bildet sich nach Lilienfeld und Monti der Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammonium ziemlich rasch, ist aber der Phosphor an organische Atomkomplexe gebunden, so erfolgt die Abspaltung in Form von Phosphorsäure je nach der Beschaffenheit der fraglichen Atomkomplexe rascher oder langsamer. Zur Bildung des phosphormolybdänniederschlags können einige Minuten, aber auch mehrere Stunden erforderlich sein. Um den etwa entstandenen Niederschlag deutlicher hervortreten zu lassen, suchten Lilienfeld und Monti zunächst durch Auswaschen mit Wasser das überschüssige Ammoniummolybdat aus den Geweben zu entfernen. Dann ließen sie Pyrogallol einwirken, welches „schon im Reagenzglas mit Phosphormolybdänsäure eine intensive braune bis schwarze Färbung gibt, wobei niedere Molybdänoxyde entstehen“. Phosphorfreier Pepton färbte sich bei der beschriebenen Molybdänpyrogallolbehandlung nicht, wohl aber das phosphorhaltige Nukleohiston.

Auch nach Macallum²⁾ werden bei der Behandlung von Geweben mit salpetersaurer Lösung von Ammoniummolybdat die an-

¹⁾ Lilienfeld und Monti. Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben. (Zeitschr. für physiol. Chemie, XVII, 1892.)

²⁾ Macallum, On the Detection and Localization of Phosphorus in animal and vegetable tissues. (Proceedings Roy. Soc., Vol. LXIII p. 417, 1898.)

organischen Phosphate zuerst angegriffen, „the organic phosphorus being much more slowly converted into the orthophosphate“.

Macallum¹⁾ gibt folgende kurze Darstellung seines Verfahrens: „The material, after thorough fixation with alcohol, was washed free from the latter with distilled water, then put in the nitric-molybdate solution for three to six hours at a temperature of 35° C, and finally, after quickly washing in water, treated for a few minutes with a one per cent solution of phenylhydrazinhydrochloride, which converts the phosphomolybdate into a bluish-green compound, this colour reaction thus indicating the original distribution of the organic phosphorus. To provide against the phosphorus demonstrated being that of lecithin, the material was extracted with hot alcohol in a Soxhlet apparatus for five hours.“

Eine Modification haben die beschriebenen Methoden des Phosphornachweises durch Pollacci²⁾ erfahren: Pollacci bringt frisches oder Alkoholmaterial in eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat, wäscht mit Wasser aus und trägt darauf die Gewebe in wässrige Lösung von Zinnchlorür ein: „Qualora essi contengano del fosfomolibdato d'ammonio, formatosi per la presenza del fosforo o di principi fosforati, appare istantaneamente nelle parti in cui è localizzato il fosfomolibdato una bella colorazione azzurra caratteristica e ben distinguibile anche in piccolissima quantità, doverta alla riduzione dell'anidride molibdica che fa parte della sua molecola con produzione d'ossido di molibdeno.“ „Il reattivo molibdico trasforma in fosfomolibdato d'ammonio il fosforo in qualunque combinazione esso si trovi, non escluse le lecitine, nucleine, acido fosfoglicerico et fosfoglicerati.“

Gegen die Methoden der drei genannten Autoren sind in der Folge gewichtige Einwände erhoben worden. Bezweifelt wird zunächst die Möglichkeit einer allgemeinen Überführung des Phosphors organischer Atomkomplexe in das Molybdat, sowie die Möglichkeit einer sicheren Unterscheidung anorganischer und organischer Phosphorverbindungen durch die angewandten Verfahren. Für unsicher wird es gehalten, ob und inwieweit die etwa erzielten Niederschläge an demselben Ort in der Zelle erscheinen, an welchem sich die Phosphorverbindungen im Leben befanden.

¹⁾ Macallum, On the cytology of non-nucleated organisms. (Transactions of the Canadian Institute, Vol. VI, 1898—99.)

²⁾ Pollacci, Intorno ai metodi di ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali. (Atti dell'Istituto Botanico dell'università di Pavia. Nuova serie, Vol. VI, 1898.) Vgl. ferner: Pollacci, Sulla distribuzione del fosforo nei tessuti vegetali. Ricerche microscopiche. (Malpighia, Anno VIII Vol. VIII, 1894.) Pollacci, Sulla ricerca microchimica del fosforo per mezzo de reattivo molibdico e cloruro stannoso nelle cellule tanniche. (Malpighia, Anno IX Vol. IX, 1895.)

Gegen Lilienfeld und Monti wendete sich zunächst Raciborski¹⁾. Nach ihm wird die an Nukleine und Eiweißstoffe festgebundene Phosphorsäure durch Behandlung mit salpetersaurem Molybdänammonium überhaupt nicht abgespalten. „In der Asche von Hühnereiweiß, Lachssperma oder von Embryosackbelegen (*Fritillaria imperialis*) ist Phosphorsäure mit molybdänsaurem Ammonium nachweisbar, dagegen zeigen dieselben Körper ohne Einäscherung auch nach 48stündiger Behandlung mit demselben Reagens gar keine Reaktion, es ist also die in ihnen festgebundene Phosphorsäure durch diese Behandlung noch nicht abgespalten.“

In den an anorganischen Phosphorsalzen reichen Geweben der Stengelspitze von *Euphorbia nerifolia* erhielt Raciborski einen schon makroskopisch sichtbaren Niederschlag mit salpetersaurem Molybdänammonium. Dieser färbte sich mit Pyrogallol grün. Abgesehen von diesem Niederschlage färbte sich aber das Gewebe braun. Hatte man hinreichend lange ausgewaschen, so blieb die Bräunung aus, die nach Raciborski lediglich durch das schwierig auswaschbare Ammoniummolybdat bedingt worden war. Dementsprechend hatte schon früher Gilson²⁾ bemerkt: „I suspect that the yellow-brown colouration Lilienfeld regards as characteristic of the Phosphorus is caused by the accumulation of ammoniummolybdate in the nuclein, the brownish colouration that ammoniummolybdate itself gives with pyrogallol is darker in the nucleus, not because nuclein contains phosphorus, but because it retains more of the ammoniummolybdate than the protoplasm does.“

Ist das Gewebe sehr reich an anorganischen Phosphorsalzen (z. B. Stengelspitzen von *Euphorbia nerifolia*, *ovula* von *Hippeastrum* usw.), so entsteht nach Raciborski der Phosphormolybdänniederschlag gewöhnlich in der Nähe der Präparate und nur bei sehr vorsichtiger Behandlung auch im Innern der Zellen. Ähnlich äußerte sich schon Hansen³⁾ über die Molybdänreaktion anorganischer Phosphate: „Auch diffundiert bei der Reaktion die Lösung gewöhnlich aus der Zelle, so daß die Reaktion außerhalb der Zellen stattfindet und der Niederschlag daher in der Umgebung des Schnittes zu suchen ist. Nur wenn die Reaktion sehr schnell eintritt, wie beim Alkoholmaterial, findet man den Niederschlag in den Zellen selbst.“

Der Angabe Raciborski's, daß man das Ammoniummolybdat nach der Behandlung von Gewebeschnitten mit demselben völlig

¹⁾ Raciborski, Kritisches Referat über die Arbeit von Lilienfeld und Monti. (Botan. Ztg., 1893, p. 245.)

²⁾ Gilson, On the affinity of nuclein for Iron and other Substances. (Report of the British Association for the advancement of Science, 1892, p. 779.)

³⁾ Hansen, Über Sphärokrystalle. (Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg, Bd. III, 1885, p. 98.)

wieder auswaschen könne, widerspricht Heine.¹⁾ Ebenso wendet sich Heine gegen die Angabe Raciborski's, daß man aus der Reduktionsfärbung (grün oder braun) auf Anwesenheit oder Abwesenheit von Phosphor schließen könne. Man erhält nach Heine im Reagenzglase je nach Mengenverhältnis oder je nachdem die Reaktion der Flüssigkeit stark oder schwach sauer ist, grüne, braune oder blaue Reduktion, ganz gleich, ob Phosphor vorhanden ist oder nicht. Heine reduzierte indessen mit Zinnchlorür, während Raciborski Pyrogallol angewendet hat.

Heine betont, daß auch phosphorfreie Eiweißkörper mit Ammoniummolybdat Fällungen ergeben können, „welche, gut ausgewaschen, nach energischer Reduktion blaue und braune Färbungen veranlassen“. Die klare Lösung eines phosphorfreien Histon in 0,3proz. HCl gab mit Ammoniummolybdat einen gelben Niederschlag, welcher, tagelang in oft gewechseltem Wasser ausgewaschen, sich durch SnCl_2 grünlich-dunkelbraun reduzieren ließ, ebenso durch Pyrogallol. Heine ist der Ansicht, daß sowohl phosphorhaltige Substanzen, darunter Nukleinsäure und Nukleine, als auch viele Eiweißkörper mit Ammoniummolybdat in salpetersaurer Lösung Verbindungen geben, welche in neutralem oder salpetersaurem Wasser unlöslich sind und sich durch Reduktion blau, grün oder braun färben lassen.

Da ziemlich dünne Schnitte selbst nach fünfständigem Kochen mit absolutem Alkohol im Rückflußkühler keine Verminderung der Blaufärbung mit Ammoniummolybdat und Zinnchlorür erkennen ließen, so nimmt Heine an, daß Lecithine nicht wesentlich an der Reaktion beteiligt sind. Aus dem Eintreten der Reaktion kann also nach alledem nicht ohne weiteres auf die Anwesenheit von Phosphor geschlossen werden.

Dementsprechend bemerkt Iwanoff²⁾: „Das von Heine bereitete Präparat von Histon, dessen Asche keine Reaktion auf Phosphor gab, zeigte die Reaktion Lilienfeld's und Monti's, dazu eine intensivere Färbung als bei der Bearbeitung der an Phosphor reichen Nukleinsäure. Es kann also auch diese Methode keineswegs für den Nachweis der phosphorhaltigen organischen Verbindungen dienen, noch weniger für eine vergleichende Abschätzung des Phosphorgehaltes derselben.“ Über die Lokalisation etwaiger Phosphorniederschläge in der Zelle sagt Iwanoff (p. 355): „Während das Ammoniumphosphormolybdat nie in der Zelle sich bildet, kann das Magnesiumammoniumphosphat in der Zelle selbst niedergeschlagen werden.“³⁾

¹⁾ Heine, Über die Molybdänsäure als mikroskopisches Reagens. (Zeitschr. für physiol. Chemie, 1896.)

²⁾ Leonid Iwanoff, Das Auftreten und Schwinden von Phosphorverbindungen in der Pflanze. (Jahrbücher für wiss. Botan., XXXVI. Bd., 1901.)

³⁾ Vgl. auch: Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. (Flora, 1890, p. 216.)

Hinsichtlich der Frage nach der Möglichkeit einer Überführung des Phosphors organischer Atomkomplexe in das Molybdat erzielte Iwanoff folgende Ergebnisse: Sowohl Kasein als auch Legumin ergaben bei Anwendung des Molybdänsäurereagens schon nach einigen Minuten, ohne erwärmt zu werden, in geringer Menge den charakteristischen gelben Niederschlag des Ammoniummolybdats. Bei Einwirkung des Reagens auf Nukleinsäure bildete sich schon in der Kälte ein reichlicher gelber Niederschlag. Die Zersetzung der Nukleinsäure geht sehr rasch vonstatten. Dagegen gab weder reines (unzersetzt) Lecithin noch Glycerinphosphorsäure mit der Molybdänsäuremischung trotz langen Stehenlassens in der Kälte einen Niederschlag.

„Übrigens zeichnen sich die verschiedenen organischen Phosphorverbindungen in der Zelle durch eine größere Beständigkeit vor den im Laboratorium erhaltenen Präparaten aus. Dementsprechend lassen sich in trocknen, mit organischen Verbindungen vollgepfropften Samen nur Spuren von Phosphaten durch die Molybdänsäuremischung nachweisen.“

Auch Lamarlière¹⁾ bemerkt: „Un essai sur le glycériphosphate de chaux traité par le molybdate d'ammonium ne m'a pas donné de coloration jaune.“

Für die Beurteilung der mit Zinnchlorür von den Autoren erzielten Färbungen sind Versuche von Interesse, welche Lamarlière mit einer blauen, durch successive Behandlung von dreibasischem Calciumphosphat mit Ammonmolybdat und Zinnchlorür erzielten Lösung anstellte. Zellmembranen konnten durch die Lösung intensiv blau gefärbt werden. „Il est donc possible, meint Lamarlière, que, dans les préparations où on a fait agir successivement le molybdate et le chlorure, leur coloration est due à ce que les parois ont absorbé un peu d'oxyde bleu formé et mis en liberté dans le liquide de la préparation ou provenant du protoplasme des cellules.“

Es bleibt zu untersuchen, inwieweit bei den von den verschiedenen Forschern vorgenommenen „Molybdänfärbungen“ die Entstehung löslicher Molybdänverbindungen in Betracht kommen kann, welche dann Färbungen auch an Orten veranlassen könnten, an welchen kein Phosphormolybdat in der Zelle niedergeschlagen worden war.

Des weiteren betont Lamarlière die Möglichkeit einer Verwechslung der Phosphorreaktion mit einer Reaktion des Arsens oder Siliciums. Auch Iwanoff hatte (l. c. p. 356) diese Möglichkeit berücksichtigt und gleichzeitig darauf hingewiesen, daß verschiedene

¹⁾ Lamarlière, Quelques observations sur le molybdate d'ammonium employé comme réactif des membranes cellulaires. (Bulletin de la Soc. Bot. de France, T. 49 Sér. 4 T. 2, 1902.)

Stoffe, z. B. weinsaures Kalium, die Phosphorreaktion mit Molybdänsäuremischung behindern können.¹⁾ Allerdings besteht hier keine Übereinstimmung unter den Autoren.²⁾

Im Gegensatz zu Iwanoff konnte Arcangeli³⁾ mit Glyzerinphosphorsäure die Bildung von Phosphomolybdat erzielen. Mit Nuklein und Lecithin, welche von Grübler in Leipzig bezogen worden waren, erfolgte sie nicht.

Von Wichtigkeit für die Beurteilung der Phosphorreaktion sind ferner die folgenden Angaben Arcangeli's: Ammonmolybdat wird von den verschiedensten Substanzen, die keinen Phosphor enthalten, wie z. B. Filtrierpapier und Celloidin, derart festgehalten, daß diese Stoffe sich (auch nach fleißigem Auswaschen) mit Zinnchlorür blau färben. Daß Gewebe die Eigenschaft haben, Molybdänsäure festzuhalten, ganz abgesehen von etwaigem Phosphorgehalt, zeigte Arcangeli dadurch, daß er sie mit Molybdänsäurelösungen behandelte, welche keine Phosphomolybdatfällungen ergaben (Molybdänsäure in verdünnter Salzsäure, in Borsäure, in Schwefelsäure; Ammonmolybdat in Wasser, in Essigsäure), dann sorgfältig auswusch und endlich mit Zinnchlorür schön blau färbte.

Von verschiedenen Seiten ist die Frage nach der Möglichkeit einer mikrochemischen Unterscheidung des Phosphors anorganischer Phosphate und organischer Atomkomplexe behandelt worden: Nach Macallum u. a. sollen die Phosphormolybdänniederschläge mit Phosphaten früher eintreten, als mit organischen Phosphorverbindungen. Die Zeitdauer der Reagentienwirkung, welche für das Eintreten der Reaktion bei organischen Phosphorverbindungen erforderlich ist, ist aber nach den Angaben von Lilienfeld und Monti und von Iwanoff für verschiedene Verbindungen sehr verschieden. In Fällen, wo die Reaktion ziemlich rasch eintritt, wird sich nicht

¹⁾ Vgl. A. Villiers et F. Borg, Sur le dosage de l'acide phosphorique. (Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris, T. 116 p. 989, 1893.)

²⁾ Vgl. Treadwell, Analytische Chemie, Bd. II p. 329, 4. Aufl., 1907. Hinsichtlich einer etwaigen Behinderung der Phosphorreaktion durch Gerbsäure vgl. Adriano Fiori, Ricerche anatomiche sull' infruttescenza dell' *Howenia dulcis* Thunb. (Malpighia, Vol. IX, 1895.) Pollacci, Sulla ricerca microchimica del fosforo per mezzo del reattivo molibdico e chloruro stannoso nelle cellule tanniche. (Malpighia, Vol. IX, 1895.) Arcangeli, Sulla ricerca microchimica del Fosforo nei tessuti vegetali. (Atti della Societa Toscana di Scienze naturali. residente in Pisa, Memorie, Vol. XVIII, 1902.)

³⁾ Arcangeli, Alcune osservazioni riguardo la ricerca microchimica de fosforo nei tessuti animali. (Monitore zoologico italiano, Vol. XVII, 1906.) Arcangeli, Sulla ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali. (Atti della Soc. Toscana di Scienze Naturali, Pisa, Memorie, Vol. XVIII, 1902.) Arcangeli, Sulla ricerca microchimica del fosforo nei preparati microscopici dei tessuti vegetali od animali. (Gazetta chimica Italiana, Anno XXXVII parte II, 1907.)

mit Sicherheit behaupten lassen, ob sie von Phosphaten oder leichter angreifbaren organischen Komplexen herrührt.

Andererseits kann sich nach Hansen¹⁾ auch dort, wo anorganische Phosphate vorhanden sind, das Eintreten der Reaktion verzögern. Will man das Calciumphosphat bei *Angiopteris* und *Marattia* in der lebenden Zelle nachweisen, „so ist es oft nötig, daß man nach dem Erwärmen mit Ammonmolybdat das Objekt 12 Stunden liegen läßt. Bekanntlich erfordert auch die Reaktion auf Phosphorsäure im Reagenzglas einige Zeit“.

Ein Auswaschen der anorganischen Phosphate aus den Geweben durch Essigsäure derart, daß mit Sicherheit angenommen werden kann, es seien nur noch phosphorhaltige organische Komplexe vorhanden, ist nach Macallum²⁾ nicht zu erzielen. A. a. O.³⁾ bemerkt Macallum: „The metaphosphate and orthophosphate may be removed from a preparation in a couple of hours by the action of dilute nitric acid.“ Aus der einschlägigen Literatur ist indessen zu entnehmen, daß es mit den bisher zur Verfügung stehenden Methoden nicht gelingt, die anorganischen Phosphate so aus den Geweben zu entfernen, daß man sicher ist, sie vollständig entfernt und andererseits nicht auch Phosphor aus organischen Komplexen abgespalten zu haben.

Von Interesse mögen in diesem Zusammenhange einige Angaben sein, welche ich einer schriftlichen Mitteilung des Herrn Professor Dr. Wibel, vormaligen Direktors des Hamburgischen chemischen Staatslaboratoriums, entnehme. Sie stammen aus dem Jahre 1882:

Das bereits mehrmals ausgekochte Pulver der Blätter von *Sambucus nigra* (entsprechend 23,050 g lufttrockene Blattsubstanz) wurde noch vier- bis fünfmal mit je 200 ccm HCl (1:20) ausgekocht, bis eine Probe des Filtrats von 25 ccm beim Eindampfen weder einen Rückstand noch P_2O_5 -Reaktion lieferte. Die Gesamtmenge der HCl-Extrakte ergab, auf lufttrockene Substanz berechnet, 0,14 Proz. SiO_2 und 0,67 Proz. P_2O_5 . Der Rückstand der extrahierten Blätter lieferte noch 0,36 Proz. Asche. Er enthielt, auf lufttrockene Originalsubstanz berechnet, 0,07 Proz. SiO_2 und 0,04 Proz. P_2O_5 .

¹⁾ Hansen, Über Sphärokristalle. (Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg, Bd. III, 1885, p. 100.)

²⁾ Macallum, On the Detection and Localization of Phosphor. (Proceedings Roy. Soc., Vol. LXIII p. 474, 1898.) Vgl. jedoch Jolly, Contribution à l'histoire des phosphates. (Comptes rendus de l'acad. des Sciences Paris, T. CXXV p. 538, 1897) und Kossel, Zur Chemie des Zellkerns. (Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. VII Heft 1, 1882.) Weitere Literatur bei Hart and Andrews, The status of Phosphorus in certain foodmaterials and animal By-products with special reference to the presence of inorganic forms. (American chemical Journal, Vol. XXX, 1903, p. 470) und A. a. O.

³⁾ Macallum, The micro-chemistry of Cells. Report. (17. Meeting of the British Association for the advancement of Science, 1900, p. 449.)

Auffallend bleibt, daß die völlig erschöpften Blätter dennoch eine Aschenmenge = 0,36 Proz. lieferten, also dennoch in ihnen anorganische Stoffe rückständig geblieben waren. Im Vergleich zu der von A. Vogel (München, Sitzb. Akad. Math.-Phys. Kl., Sitzg. 5. Juni 1880, p. 526) gefundenen Gesamtaschenmenge = 5,40 Proz. ist jene allerdings sehr klein, allein sie ist doch einmal vorhanden und erweckt um so mehr Mißtrauen, als sie keineswegs nur aus SiO_2 besteht, vielmehr nur 19,5 Proz. SiO_2 enthält. Man könnte vielleicht annehmen wollen, daß man es hier mit in verdünnter HCl unlöslichen Silikaten zu tun habe, welche als äußerliche Verunreinigung (Staub, Erde usw.) der Blattsubstanz angehaftet haben. Dem widerspricht nur die SiO_2 -Armut der Asche, denn alle gewöhnlichen mineralischen Silikate (Tone, Feldspate usw.) sind viel reicher an SiO_2 . Es bleibt zweifelhaft, ob jene 0,04proz. P_2O_5 nicht doch in die mineralische Aschenmenge einzurechnen seien.

Eine Erschöpfung der Blätter in der Kälte wurde nicht erreicht. Trotz 20mal wiederholten Aufgießens von je zwei Litern HCl (1:20) und langer Berührung derselben mit dem verhältnismäßig kleinen Quantum von Blättern wurde immer noch P_2O_5 , CaO und Alkalien in wahrnehmbaren Mengen ausgezogen.

Es können diese Resultate dahin interpretiert werden, daß die Extraktion der Phosphate in der Kälte ungemein langsam erfolgt. Inwieweit dabei auch „organischer Phosphor“ extrahiert wird, ist unsicher. Ebenso ist es unsicher, inwieweit bei der Extraktion in der Wärme außer Phosphaten auch „organischer Phosphor“ entfernt wird und ob in dem Rückstand dann etwa nur „organischer Phosphor“ erhalten bleibt.

Den verschiedenen Einwänden gegenüber, welche gegen ihre Methoden des Phosphornachweises erhoben worden sind, haben Pollacci und Macallum wiederholt Stellung genommen.

Pollacci betont zunächst¹⁾: „Di positivo poi si è che con svariate sostanze fosforate tra le quali la nucleina, l'acido fosfoglicerico, caseina, legumina ecc. io ho ottenuto, e solo dopo pochi minuti, formazione di fosfomolibdato col reattivo molibdicco.“ Abweichende Resultate meint Pollacci durch ungeeignete Bereitung des Molybdänreagens erklären zu sollen.

Des weiteren gibt Pollacci zwar zu, daß die Blaufärbung durch Zinnchlorür sowohl mit dem Phosphomolybdat als auch mit dem einfachen Ammonmolybdat eintritt, bleibt aber dabei, daß es möglich sei, letzteres aus den Geweben auszuwaschen, ohne das Phosphomolybdat zu entfernen.

¹⁾ Pollacci, Intorno al miglior metodo di ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali. (Atti dell'Istituto Botanico della R. università di Pavia, Ser. II Vol. X, 1904.)

Durch Ammoniak läßt sich nach Pollacci in den Geweben entstandenes Phosphomolybdat vollständig auswaschen, dann erfolgt keine Färbung mehr auf Zusatz von Zinnchlorür, nachdem die Gewebe sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, wieder mit dem Molybdänreagens und endlich in Wasser con nitrato d'ammonio gewaschen worden sind. Hieraus schließt Pollacci, daß, wenn die Gewebe ohne Phosphor die Fähigkeit besitzen, das Molybdänreagens zu fixieren, es sich um rein mechanische, nicht chemische Fixierung handeln müsse, „e quindi il molibdato d'ammonio che non entra nella composizione del fosfomolibdato d'ammonio insolubile, e dall'aqua asportato, dato le sue proprieta di solubilita“.

Pollacci hat hier nicht beachtet, daß Heine (l. c. p. 135) ausdrücklich bemerkt: „Wenn Lilienfeld und Monti zellenreiche Schnitte von Lilien und Muskelstücke in Ammonmolybdat brachten, den einen Teil mit Wasser, den zweiten mit Ammoniak auswuschen und dann nur in dem ersteren eine Reduktionsfärbung erhielten, so ist zu bemerken, daß auch Eiweißmolybdat in Ammoniak löslich ist, daß also die Autoren nicht zu dem Schlusse berechtigt sind, es habe sich um phosphormolybdänsaures Ammon gehandelt.“

Pollacci hat also bei seinem Verfahren etwa vorhandenes Eiweißmolybdat mit auswaschen können. Bekam er dann in seinen ausgewaschenen Geweben nach abermaliger Molybdänbehandlung keine Färbung mit Zinnchlorür, so beweist das keineswegs, daß die frischen Gewebe abgesehen von etwaigem Phosphorgehalt kein Molybdän festzuhalten vermögen. Auf Pollacci's auch im übrigen nicht einwandfreie Gedankengänge soll hier nicht weiter eingegangen werden.

Andere Resultate als Pollacci hat Arcangeli¹⁾ nach der Ammoniakbehandlung von Geweben, welche vorher mit dem Molybdänreagens behandelt worden waren, erhalten. Arcangeli wiederholte mehrfach das Auswaschen mit Ammoniak und erneutes Einbringen in das Molybdänreagens. Dennoch erhielt er die Blaufärbung mit Zinnchlorür. Auch Bertolo²⁾ erzielte zunächst Blaufärbung mit Zinnchlorür nach Behandlung mit Molybdänreagens, Auswaschen mit Ammoniak und abermaliger Behandlung mit Molybdänreagens. Hatte er aber dann die Behandlung mit Ammoniak lange genug ausgedehnt, so blieb die Färbung mit Zinnchlorür aus.

¹⁾ Arcangeli, Sulla ricerca microchimica del Fosforo nei tessuti vegetali. (Atti della Societa Toscana di Scienze Naturali, Pisa, Memorie, Vol. XVIII, 1902.) Vgl. auch Bongiovanni, Sulla ricerca microchimica de Fosforo nei vegetali. (Atti del R. istituto veneto di scienze, lettere ed arti. Anno accademico 1907—8, T. LXVII, parte seconda, p. 679.)

²⁾ Bertolo, Ricerca microchimica e localizzazione del fosforo nelle ovaie degli Echinidi. (Atti della Accademia Gioenia di Scienze Naturali in Catania, Anno LXXX, 1903, Ser. IV Vol. XVI.)

Ein Versuch zur Verteidigung der Methode Pollacci's ist von Comes¹⁾ unternommen worden. Indessen besteht dieser Versuch im wesentlichen darin, daß Comes die Blaufärbung durch Zinnchlorür solcher mit dem Molybdänreagens behandelter Gewebe oder Gewebsbestandteile hervorhebt, für welche man einen Phosphorgehalt annehmen kann. Daß aber die Fixierung des Molybdäns in diesen Geweben auf einer Bildung von Phosphormolybdat beruhe, wird nicht nachgewiesen. Comes hält fest an der Auswaschbarkeit des nicht an Phosphor gebundenen Molybdäns, macht aber darauf aufmerksam, daß man nicht zu lange auswaschen dürfe, weil, worauf auch schon Raciborski hingewiesen hat, das Phosphomolybdat nicht ganz unlöslich sei. Daß hieraus der Methode Pollacci's weitere Schwierigkeiten erwachsen, bemerkt Comes nicht.

Die Angaben Pollacci's über das Ausbleiben der Blaufärbung in Geweben, welche nach der Behandlung mit dem Molybdänreagens mit Ammoniak und darauf nach abermaligem Einbringen in das Molybdänreagens mit Zinnchlorür behandelt worden waren, vermag Comes zu bestätigen.

Macallum²⁾ hat zunächst die Ausführungen von Raciborski und Heine berücksichtigt. Er ist mit Heine der Meinung, daß es nicht möglich sei, alles nicht an Phosphorsäure gebundene Molybdän wieder aus den Geweben auszuwaschen, betont aber mit Raciborski die Differenz der Reduktionsfärbungen von phosphomolybdänsaurem und molybdänsaurem Ammonium bei Verwendung von Pyrogallol: „Perhaps the most striking way of demonstrating that the phosphomolybdate is turned green and the molybdate brown by the action of pyrogallol, is by impregnating portions of thin strips of writing-paper with a solution of sodic phosphate, drying them, and then submitting them to the action of the nitric-molybdate solution, which gives them a yellow colour. On now washing them in distilled water, and submitting them to the pyrogallol solution, the areas which are impregnated with the Phosphomolybdate become green in a few

¹⁾ Comes, Ancora del metodo di G. Pollacci e delle obiezioni mosse dal Dot. Arcangeli ecc. (Monitore zoologico italiano, Vol. XVII, 1906, p. 299.) Vgl. ferner: Comes, Sulla struttura e sulla costituzione chimica della zona pellucida del l'uovo di alcuni mammiferi. (Bolletino delle sedute della Accademia Gioenia di Scienze Naturali in Catania, Nuova Serie, 1905, Fasc. LXXXVI.) Comes, Sull'attendibilità del metodo Pollacci per la ricerca microchimica del fosforo nei tessuti animali. (Ebenda, 1906, Fascicolo XC.) Russo, Prime ricerche dirette a determinare la permeabilità e la struttura istochimica della zona pellucida nei mammiferi. (Ebenda, 1906, Fascicolo LXXXVIII.) Russo, Modificazioni sperimentali dell'elemento epiteliale dell'ovaia dei mammiferi. (Memorie della R. Accad. dei Lincei, Classe di Scienze fisiche, mathem. e naturali, Anno CCCIV Serie V Vol. VI Fasc. XII p. 361, 1907.)

²⁾ Macallum, l. c. Proceedings Roy. Soc., 1898.

seconds, while the parts which contain the molybdate solution alone become brown or yellowishbrown, and the contrast between the two reactions thus appears marked."

Im Reagenzglase verlaufen die Reaktionen nach Macallum folgendermaßen: Wirkt Pyrogallol auf völlig ausgewaschene Niederschläge von Phosphomolybdat ein, so geht deren gelbe Farbe in grün über, auch bei Gegenwart von Salpetersäure. Die Färbung bleibt für einige Stunden erhalten, dann wird die Färbung des Niederschlages nach und nach dunkler, bis sie nach 24 Stunden schwarz geworden ist, „with a faint shade of green in thin layers“.

Von der Grünfärbung des Phosphormolybdänniederschlages konnte auch ich mich unschwer überzeugen. Bringt man den Niederschlag unter das Mikroskop und läßt dann Pyrogallollösung hinzufließen, so färben sich die zuvor gelben Kristalle des Niederschlages sofort schön grün. Die Färbung wird dann bald dunkler bis schwarz. Ebenso konnte ich bestätigen, daß das Molybdänreagens, auf weißem Schreibpapier mit Pyrogallol behandelt, sofort eine braune Färbung ergibt, die freilich rasch nachdunkelt. Behandelt man aber das Papier nach Macallum's Vorschrift zunächst mit phosphorsaurem Natron und darauf mit dem Molybdänreagens, so erhält man mit Pyrogallol sofort eine schwarzgrüne Färbung. Demgegenüber ist die Färbung des auf beiderlei Art behandelten Schreibpapiers gleichartig intensiv blau, wenn man anstatt des Pyrogallols Zinnchlorür benutzt.

Wirkt Pyrogallol im Reagenzglase auf salpetersaure Lösung von Ammonmolybdat ein, so wird nach Macallum eine bräunlich-schwarze oder schwarze Färbung hervorgerufen, und es kann ein amorpher Niederschlag entstehen, der unter dem Mikroskop grau-blau-schwarz erscheint, während die Flüssigkeit selbst braun aussieht. Diese letztere Färbung schreibt Macallum dem oxydierten Pyrogallol zu. Nach 24 Stunden ist der Niederschlag schwarz, mit oder ohne braunem Ton.

Wirkt Pyrogallol auf „Ammoniummolybdate in solution“, so ergibt sich eine tief braune Färbung, welche, ohne daß ein Niederschlag entsteht, auch nach 24 Stunden erhalten bleibt.

In den Geweben beobachtete Macallum entsprechende Reaktionen. Werden diese mit Ammoniummolybdat getränkt, ausgewaschen und darauf mit Pyrogallol behandelt, so erfolgt Braunfärbung, „which is most marked in the parts of the cells which have an affinity for colouring matters“. Bei Abwesenheit von Salpetersäure konnte sich keine Phosphormolybdänverbindung bilden, dennoch konnte das Molybdän nicht ausgewaschen werden.

Gelangen die Gewebe in salpetensaure Ammoniummolybdatlösung und dann nach dem Auswaschen in Pyrogallol, so werden die Kerne grün. Läßt man aber das Pyrogallol länger als 10 Minuten ein-

wirken. „it begins to stain the cells and to mark the green more or less with a brown colouration, which distributes itself in them as colouring matters generally do“.

Die Verwendung von Pyrogallol für den Phosphornachweis hält Macallum nicht für empfehlenswert, da eine schwache Grünfärbung durch die Bräunung verdeckt werden kann, welche von oxydiertem Pyrogallol oder von reduziertem Ammoniummolybdat herrührt. Auch Zinnchlorür ist nicht brauchbar, da es das phosphorhaltige von dem phosphorfreien Molybdat nicht unterscheidet. Am besten geeignet ist für den Phosphornachweis Phenylhydrazinhydrochlorid (frisch bereitete Lösung von 1—4 Proz.). Es bildet mit dem phosphorfreien Molybdat in Pulverform sofort das braune Oxyd, in Lösung eine bräunliche Fällung; enthält die Lösung Salpetersäure, so tritt eine rötliche Färbung auf. Mit dem phosphorhaltigen Molybdat aber bildet sich sofort das dunkelgrüne Molybdänoxyd, sowohl bei Gegenwart als auch bei Abwesenheit von Ammoniummolybdat oder Salpetersäure. Unter dem Mikroskop erkennt man, daß nur die Phosphormolybdatkristalle grün gefärbt sind, nach etwa einer Stunde wird die Färbung so dunkel, daß sie schwarz erscheint.

Bringt man Gewebe in salpetersaures Ammoniummolybdat, wäscht kurz mit verdünnter Salpetersäure aus und trägt sie darauf in Phenylhydrazinhydrochlorid ein, so entsteht in weniger als zwei Minuten dort, wo sich die Phosphormolybdänverbindung gebildet hat, eine grüne Färbung, wo nur Ammoniummolybdat vorhanden ist, eine schwache Gelbfärbung.

Macallum ließ das salpetersaure Ammoniummolybdat auf frisches und Alkoholmaterial einwirken. Letzteres soll den Vorteil gewähren, daß es die Extraktion von Lecithin und anorganischen Phosphorverbindungen zuläßt und daß die Zellbestandteile in fixierter Form vorliegen. Die Zeitdauer der Einwirkung des Molybdates schwankte zwischen 10 Minuten und 48 Stunden, als günstigste Temperatur erwies sich 35° C. Die anorganischen Phosphate wurden zuerst angegriffen, dann Lecithin, viel langsamer die organischen Phosphorverbindungen. „In order, not to confuse the inorganic phosphorus with that of organic combinations, I have always endeavoured to determine in any given material what extent of molybdo-phosphate reaction may be obtained in the first ten minutes after the molybdate reagent is added. This reaction indicates whether the tissues are rich or poor in inorganic phosphates, and it may be compared with what may be obtained after a longer stay in the reagent, any enhancement in the reaction thus demonstrating the Phosphorus of organic compounds“ (l. c. p. 474).

In Versuchen mit zahlreichen Zellen verschiedener Herkunft zeigte sich die Reaktion auf „organischen“ Phosphor besonders im

Chromatin. Dabei war die Reaktion der Chromosomen in den Kernteilungsfiguren nicht stärker als diejenige des Chromatins im ruhenden Kern. Die Reaktion der Nukleolen war verschieden. Im allgemeinen fiel sie schwächer aus als im Chromatin, in einigen Fällen ergaben aber auch die Nukleolen eine intensive Reaktion (so z. B. bei *Spirogyra*). Das Cytoplasma zeigte im allgemeinen geringe Reaktion. Die achromatische Spindel reagierte nicht. Heine¹⁾ hatte hier das Gegenteil gefunden. Indessen weist Macallum darauf hin, daß Heine Zinnchlorür als Reduktionsmittel verwendet hat, welches keine Unterscheidung zwischen Molybdat und Phosphomolybdat gestattet. Der positive Ausfall der Reaktion Heine's gestatte keinen Schluß auf die Gegenwart von Phosphor.

Centrosomen und Centrosphären reagierten nicht. Bei *Spirogyra* reagierten die Chromatophoren schwach, die Pyrenoide meist stärker, ebenso bei einigen anderen untersuchten Algen.

Entsprechend den a. a. O. mitgeteilten Annahmen hinsichtlich der Verbreitung von Nukleinstoffen in der Zelle hat also Macallum Phosphorreaktionen (abgesehen von der achromatischen Spindel und den Centrosomen) in allen Teilen der Zelle, besonders intensiv aber in den chromatischen Elementen, dem Sitze des „Kernnukleins“, gefunden.²⁾

Von mir vorgenommene Nachprüfungen mit der Methode Macallum's haben jedoch zum Teil zu abweichenden Resultaten geführt. Zunächst erhielt ich bei *Spirogyra* Resultate, welche demjenigen Macallum's entsprachen: *Spirogyren* gelangten frisch auf 20 Stunden bei 35° C in das Molybdänreagens, wurden darauf in destilliertem Wasser rasch ausgewaschen und in konzentrierter Pyrogallollösung untersucht. Die Kerne (Nucleolus und sonstiger Kerninhalt) waren grün gefärbt, aber nicht intensiv, die Chlorophyllbänder braun, die Pyrenoide grün (vgl. Macallum, l. c. 1898, p. 469).

Auch Phajuswurzeln ergaben Resultate, welche mit den tatsächlichen Beobachtungen Macallum's nicht unvereinbar waren.

Frische Schnitte gelangten auf 4 Stunden bei 35° C in das nach Fresenius³⁾ bereitete Mo-Reagens, wurden dann in destilliertem Wasser abgespült und schließlich in 4proz. Phenylhydrazinhydrochloridlösung untersucht. Plasma und Kern färbten sich sofort schwärzlich grün, und zwar färbte sich das Kerngerüst recht intensiv, die Nukleolen aber heller und reiner grün. Am Schnitt zeigten sich

¹⁾ Heine, Die Mikrochemie der Mitose. (Zeitschr. für physiologische Chemie, Bd. XXI, 1896.)

²⁾ Vgl. O. Loew, Über die physiologische Funktion der Phosphorsäure. (Biolog. Centralblatt, Bd. XI Nr. 9, 10, 1891.)

³⁾ Fresenius, Quantitative chemische Analyse. Braunschweig 1877—87, Aufl. 6 Bd. II S. 691, Anm.

ziemlich viel dunkelgrüne Kristalle vom Aussehen entsprechend behandelter Kristalle von Ammoniumphosphormolybdat. Durch Überführen der Schnitte in Alkohol, darauf in Cedernholzöl und schließlich in Canadabalsam konnten schön gefärbte Dauerpräparate erzielt werden.

Wurde anstatt der Phenylhydrazinhydrochloridlösung 20proz. Pyrogallollösung verwendet, so waren zunächst bei der Untersuchung in Pyrogallol Plasma und Kern schwärzlich braun, der Kern intensiver gefärbt, die Nukleolen erschienen hellgrün. Nach der Überführung in Canadabalsam waren Plasma, Kerngerüst und Nukleolen hellgrün in den dünneren Teilen der Schnitte, in den dickeren war die Färbung allgemein braun. Wurden die Schnitte nach 4stündiger Einwirkung des Molybdänreagens bei 35° C und Abspülen in destilliertem Wasser noch auf 24 Stunden in ein größeres, mit destilliertem Wasser gefülltes Gefäß eingelegt, so färbten sich darauf in 20proz. Pyrogallollösung die Kerngerüste und Nukleolen zum Teil ganz hellgrünlich, zum Teil gar nicht, während Phenylhydrazinhydrochlorid überhaupt gar nicht färbte.

Auch nach längerer (24stündiger) Einwirkung des Molybdänreagens bei 35° C auf die frischen Schnitte und darauf folgendem Abspülen in destilliertem Wasser erhält man mit 4proz. Phenylhydrazinhydrochloridlösung eine schöne Grünfärbung von Kern und Plasma. Dieselbe bleibt aber vollständig aus, nachdem die Schnitte 6 Tage lang in dem Reagens erwärmt worden sind. Auch 20proz. Pyrogallollösung färbt nun nicht mehr, während ziemlich viel tief grün gefärbte Kristalle vom Aussehen der Ammoniumphosphormolybdatkristalle an den Schnitten zu sehen sind.

Es spricht dies alles nicht dafür, daß die nach kürzerer Einwirkung des Molybdänreagens erzielbare Färbung als eine Phosphorreaktion aufzufassen sei.

Von tierischen Objekten prüfte ich das von Lilienfeld und Monti (l. c. p. 421) untersuchte Froschblut. Lilienfeld und Monti strichen das Blut auf Deckgläser aus und brachten es dann sofort, bevor es eintrocknete, in Ammoniummolybdat. „Das Froschblut ergab, daß die roten Blutkörperchen sich (mit Pyrogallol) intensiv tingieren, wobei der ganz braune Kern phosphorreicher erscheint als das Cytoplasma.“

Meine Versuche hatten abweichende Ergebnisse: Froschblut wurde frisch auf Deckgläser aufgestrichen und dann sofort, vor dem Eintrocknen, in das Molybdänreagens nach Fresenius eingelegt. Nach 1½ stündigem Verweilen in dieser Lösung bei Zimmertemperatur und darauf folgendem Abspülen in destilliertem Wasser wurden die Deckgläser auf Objektträger aufgelegt, die zum Teil mit 20proz. Pyrogallollösung, zum Teil mit 4proz. Phenylhydrazinhydrochlorid-

lösung beschickt worden waren. Im Pyrogallol blieb der Kern der Blutkörperchen farblos, ihre sonstige Substanz färbte sich braun. In Phenylhydrazinhydrochlorid erfolgte überhaupt keine Färbung.

Andere Deckgläser mit Froschblut blieben 24 Stunden bei 35°C im Molybdänreagens und wurden dann übrigens wie die vorstehend beschriebenen behandelt. In Pyrogallol blieb der Kern farblos, wie namentlich auch an zertrümmerten Blutkörperchen mit einseitig freiliegendem Kern festgestellt werden konnte, während die sonstige Substanz sich gelbbraun, dann schwärzlich färbte. Auch in Phenylhydrazinhydrochlorid färbte sich der Kern nicht oder fast nicht. Die sonstige Substanz wurde schwärzlich-grün, ziemlich stark gefärbt.

Deckgläser, welche 48 Stunden bei 35°C im Molybdänreagens gelegen hatten, zeigten nach gleichartiger Behandlung dasselbe Verhalten des aufgestrichenen Froschblutes, wie die vorstehend beschriebenen.

Außer dem frischen Froschblut wurde noch mit Alkohol vorbehandeltes untersucht. Das Blut gelangte auf mehrere Tage in absoluten Alkohol, darauf in destilliertes Wasser und schließlich auf kürzere oder längere Zeit in das Molybdänreagens. Aus diesem wieder in Wasser, um dann in 20proz. Pyrogallol-, 4proz. Phenylhydrazinhydrochlorid- oder Zinnchlorürlösung untersucht zu werden. Dabei wurde das Blut nicht auf Deckgläser aufgestrichen, sondern die bei dem Eintropfen des Blutes in Alkohol entstehenden Fetzen oder Flocken der weiteren Behandlung unterworfen.

Nach $2\frac{1}{2}$ stündiger Molybdänwirkung bei Zimmertemperatur und Abspülen in destilliertem Wasser war in Pyrogallol der Kern farblos, die sonstige Substanz der Blutkörper intensiv braun; in Phenylhydrazinhydrochlorid erschien keine Färbung.

Nach $3\frac{1}{2}$ stündiger Molybdänwirkung bei 35°C und Abspülen in destilliertem Wasser war in Pyrogallol der Kern farblos, die sonstige Substanz tiefbraun; in Phenylhydrazinhydrochlorid der Kern farblos, die sonstige Substanz zum Teil (nicht bei allen Blutkörperchen) grün.

Nach 24 stündiger Molybdänwirkung bei 35°C war nach Abspülen in destilliertem Wasser in Pyrogallol der Kern farblos, die sonstige Substanz tief braun; in Phenylhydrazinhydrochlorid der Kern farblos, die sonstige Substanz tief schwärzlich-grün. War das Blut nach dem Abspülen in destilliertem Wasser noch auf 24 Stunden in ein größeres Gefäß mit destilliertem Wasser eingetragen worden, so fielen die Färbungen der Blutkörperchen weniger intensiv aus.

Nach 48 stündiger Molybdänwirkung bei 35°C und Abspülen in destilliertem Wasser wurde in Phenylhydrazinhydrochlorid die Substanz der Blutkörper schön schwärzlich-grün, dann bläulich-schwarz. Der Kern schimmerte hell hindurch. Bei geöffneter Blende erschien sein Gerüst farblos oder spurenweise gefärbt.

Nach 48stündiger Molybdänwirkung bei 35° C und 3½ stündiger Wasserbehandlung war in Zinnchlorür der Kern farblos, die sonstige Substanz der Blutkörperchen schön himmelblau gefärbt.

Im Kern trat demnach bei sämtlichen Versuchen die Phosphorreaktion der Autoren nicht ein, obwohl nach Maßgabe sonstiger Erfahrungen das Vorkommen von Nukleoproteiden im Kern der Blutkörperchen anzunehmen ist. Wenn Liliensfeld und Monti nach Einwirkung von Pyrogallol „ganz braune Kerne“ gesehen haben, so kann das möglicherweise damit zusammenhängen, daß sie vielleicht bei geschlossener Blende beobachtet haben. Dann kann das dichte, scharf konturierte Kerngerüst innerhalb der braun gefärbten Masse des Blutkörperchens den Eindruck hervorbringen, als ob es dunkel gefärbt sei.

Die Färbungen der Blutkörperchen waren in allen untersuchten Fällen diffus, gefärbte Kristalle waren nicht sichtbar. Eine homogene, diffus gefärbte Substanz erfüllte entweder den ganzen Innenraum des Blutkörperchens in der Umgebung des Kernes oder diese Substanz war mehr oder weniger vakuolisiert, sie konnte auch wohl in verschiedener Art zerklüftet und zerteilt erscheinen.

Schon Raciborski hat ausgeführt, daß „für den Nachweis des Phosphors gerade das Auftreten von sichtbaren Kristallen charakteristisch ist“, welche sich mit Pyrogallol grün färben. Die Phosphorreaktion der Autoren wird aber in den Organen der Zelle als „Färbung“ dieser Organe, ohne daß Ammoniumphosphomolybdatkristalle kenntlich werden, beobachtet.

Die Möglichkeit ist hier nicht ausgeschlossen, daß diese Färbungen (mögen sie auch ebenso aussehen, wie die Färbungen von Ammoniumphosphormolybdatkristallen bei entsprechender Behandlung) bei der Reduktion nicht phosphorhaltiger, in den Geweben entstandener Molybdänverbindungen auftreten könnten. Es ist ferner möglich, daß die Bildung und Anhäufung solcher Verbindungen in bestimmten Teilen der Zelle bei ihrer Behandlung mit dem Molybdänreagens je nach Beschaffenheit und Vorbehandlung der Gewebe mit verschiedener Geschwindigkeit erfolgt. Dann wird kürzere oder längere Vorbehandlung mit dem Reagens erforderlich sein, um nach Zusatz von Phenylhydrazinhydrochlorid oder Pyrogallol eine Grünfärbung zu erhalten. Das Erforderlichsein einer längeren Molybdänvorbehandlung zwingt demnach, abgesehen von früher beigebrachten Gründen, nicht (wie von einigen angenommen worden ist) zu dem Schlusse, den Färbungen läge das Vorhandensein organischer Phosphorverbindungen in den gefärbten Organen zugrunde. Abgesehen aber auch hiervon entbehrt die Phosphorreaktion Macallum's der gesicherten Grundlagen. Vor allen Dingen schwanken die Angaben der Forscher hinsichtlich der Möglichkeit einer allgemeinen Überführung des Phosphors organischer Atomkomplexe in das Molybdat. Jedenfalls geht schon aus den hier

mitgeteilten Angaben von Raciborski, Iwanoff und mir hervor, daß sich diese Überführung mit den bisher angewandten Methoden für die organischen Phosphorverbindungen innerhalb der Zelle nicht allgemein nachweisen läßt.

Des weiteren werden dann aber die Grundlagen der für den mikrochemischen Nachweis des „organischen“ Phosphors vorgeschlagenen Methoden durch neuere Untersuchungen von Bensley und Scott angegriffen.

Bensley¹⁾ stellte zunächst fest, daß Molybdänsäurelösungen sich mit Phenylhydrazinhydrochlorid sofort blau färben, worauf sich ein blauer Niederschlag bildet, und ferner „that molybdic acid may be taken up from its solutions by tissues and may be detected in these by the blue reaction produced by treatment of the sections with phenylhydrazinhydrochloride“.

„Under the conditions of the Lilienfeld-Monti-Macallum reaction molybdic acid occurs in the solution associated with nitric acid as well as with ammonium molybdate, ammonium nitrate, and the products of dissociation of all these compounds“.

Bensley fand nun, daß Molybdänsäurelösungen nach Beimischung von Salpetersäure oder Salzsäure (5 Proz.) von Geweben noch besser aufgenommen wurden, als reine Lösungen. Es wurden dann blaue oder grüne Färbungen durch Reduktion erzielt.

„With the mixture of nitric and molybdic acids the reaction obtained after reduction was a deep greenish blue colour in the nuclear chromatin, a faint greenish blue in the cytoplasm.“

Den Umstand, daß im Gewebe die Reduktionsfarbe grünblau, im Reagenzglase aber reinblau ausfällt, führt Bensley darauf zurück, daß im Gewebe die Xanthoproteinreaktion hinzukommt.

Wie bei Macallum's „Phosphor“reaktion schritt die Absorbition der Molybdänsäure allmählich fort, so daß nach 18stündiger Einwirkung von Molybdänsäure auf die Gewebe die Reaktion viel stärker hervortrat, als nach 3stündiger.

Durch Verwendung eines Gemisches von Molybdän- und Salpetersäure konnten also dieselben Erfolge erreicht werden, wie mit Macallum's Methode. Es fragte sich nun, ob die beobachteten Färbungen lediglich auf der Reduktion absorbierter Molybdänsäure beruhten oder ob auch Eiweißverbindungen der Phosphormolybdänsäure (nach etwaiger Abspaltung von Phosphorsäure aus organischen Atomkomplexen) in Betracht kommen könnten. Für denkbar hielt Bensley sogar „that ammoniumphosphomolybdate was formed, the

¹⁾ Bensley, An examination of the methods for microchemical detection of Phosphorus-compounds other than Phosphates in the tissues of animals and plants. (Biological Bulletin of the marine biological Laboratory, Woods Holl, Mass., Vol. X No. 2, 1906.)

ammonium ions necessary to the reaction being furnished by the albumens“.

Zur Entscheidung dieser Frage berücksichtigte Bensley die differente Einwirkung der Salpetersäure bei der Reduktion von Molybdänsäure, Ammoniummolybdat und Ammoniumphosphomolybdat. Die reduzierende Einwirkung von Phenylhydrazinhydrochlorid bestimmter Konzentration auf diese Verbindungen kann bei bestimmten Verbindungen durch Zusatz bestimmter, für verschiedene Verbindungen verschiedener Mengen von Salpetersäure verhindert werden. Für jede Verbindung sind die zur Verhinderung der Reduktion erforderlichen Mengen von Salpetersäure je nach dem Konzentrationsgrad der Verbindungslösung verschieden. Für Molybdänsäure und Ammoniummolybdat sind geringere Mengen Salpetersäure erforderlich als für Phosphomolybdänsäure.

Lösungen von Ammonmolybdat geben nach Macallum mit Phenylhydrazinhydrochlorid eine braune Färbung; darauf bildet sich langsam eine braune Fällung. Bei Zusatz von Salpetersäure bildet sich aber, falls die Menge der Salpetersäure bestimmte mit der Konzentration der Lösung schwankende Grenzen nicht überschreitet, eine blaue Färbung und schließlich eine tief blaue Fällung.

Es sind z. B. 5,66proz. Salpetersäure erforderlich, um in einer 2,0proz. Ammonmolybdatlösung die Reduktion durch 0,1proz. Phenylhydrazinchlorid zu verhindern. Phosphormolybdänsäurelösung wird durch Phenylhydrazinhydrochlorid sofort in das blaue Oxyd übergeführt. 14,74proz. Salpetersäure sind hier erforderlich, um in einer 0,4proz. Lösung die Reduktion durch 0,1proz. Phenylhydrazinhydrochlorid zu verhindern.

Ammoniumphosphomolybdat in Wasser suspendiert wird durch Phenylhydrazinhydrochlorid sofort zu blauem Oxyd reduziert „the green colour which is first seen when phenylhydrazinhydrochlorid is added to the crystals of Ammoniumphosphomolybdate being simply due to the yellow background afforded by the unreduced phosphomolybdate. After a few minutes the reaction proceeds still further and a soluble blue-violet compound is formed“. In Gegenwart von Salpetersäure wird die Reaktion etwas verzögert. Sie kann aber unter Verwendung von 0,1proz. Phenylhydrazinhydrochlorid selbst durch 36proz. Salpetersäure nicht verhindert werden.

Um das entsprechende Verhalten der verschiedenen Molybdänverbindungen in den Geweben zu prüfen, verwendete Bensley Schnitte aus der Leber von Necturus (Alkoholmaterial). Die Schnitte wurden mit Macallum's salpetersaurem Molybdatreagens, einer Lösung von Molybdänsäure in 10proz. Salpetersäure resp. Phosphorsäure (10proz.), behandelt, und zwar erfolgte die Einwirkung der beiden ersteren Lösungen 3 Stunden lang bei 37,5° C, darauf 18 Stunden

bei Zimmertemperatur. Sie wurden darauf zum Teil mit 0,1proz. Phenylhydrazinhydrochlorid geprüft und gaben in jedem Falle „a strong reaction corresponding in its characters and distribution to the phosphorus reaction of Macallum“. Andere gleichartig vorbehandelte Schnitte wurden mit Lösungen von Phenylhydrazinhydrochlorid (0,1proz.), welche verschiedene Mengen Salpetersäure enthielten, je 15 Minuten behandelt. Dieselbe Behandlung erfuhren Schnitte, welche nach einer Tränkung mit Phosphorsäure in das salpetersaure Molybdatreagenz gelangt waren:

„With a concentration of 3,27 percent of nitric acid, Phenylhydrazinhydrochloride 0,1 %, the molibdic acid sections and the nitric molybdate sections showed no reaction after three minutes' treatment, although the section containing ammoniumphosphomolybdate artificially introduced gave a maximum reaction in less than one minute. After fifteen minutes' action, a very faint reaction was obtained in the nuclei, both in the molybdic acid section and in the nitric molybdate section. When the concentration of the nitric acid reached 16,37 %, the Phenylhydrazin remaining the same, the reaction was not recognizable after fifteen minutes' treatment although sections containing ammoniumphosphomolybdate artificially introduced reduced to a maximum depth of color in the same solution in five minutes. Only one conclusion is possible from these experiments, namely, that sections after treatment with Macallum's reagent for this length of time did not contain appreciable quantities of ammoniumphosphomolybdate. Thus the fundamental assumption on which the reaction of Lilienfeld and Monti and of Macallum is based falls to the ground.“

Bensley hält es für ausgemacht, daß, wenn der Phosphor bei dem Macallum'schen Verfahren vor der Zerstörung der sichtbaren Zellstrukturen frei gemacht wird, er nicht durch das salpetersaure Molybdatreagens in situ niedergeschlagen wird. Bensley ist der Meinung, daß die nach dem Verfahren Macallum's auftretende Reaktion ausschließlich durch die Bildung von Verbindungen der Molybdänsäure mit Gewebeseiweiß bedingt wird und keineswegs durch die Bildung von Ammoniumphosphomolybdat auf Kosten des „organischen“ Phosphors.

Scott¹⁾ stellte zunächst fest, daß man in dem Molybdänreagens die Salpetersäure ohne Schädigung der Reaktion durch Salzsäure ersetzen und so bei der Prüfung von Geweben auf Phosphor die störende Xanthoproteinreaktion ausschalten könne. Für die Prüfung von Geweben auf Phosphor benutzte Scott eine Lösung von folgender Zusammensetzung:

¹⁾ F. H. Scott, On Methods supposed to localize Phosphorus in cells. (The journal of Physiology, London and Cambridge, 1906—07, Vol. XXXV p. 119.)

Ammoniummolybdat 10proz. Lösung	80 cc.
Salzsäure sp. Gew. 1,16	12 cc.
Ammoniumchlorid	20 g.
Kaliumpersulfat gesättigte Lösung	10 cc.

„The addition of an oxidizing agent is only necessary when the reagent is to be applied to tissues, but without such oxidizing agent the tissues will turn blue owing to the reduction of the molybdic acid.“

Werden Gewebe, welche anorganische Phosphate enthalten, mit dieser Lösung behandelt, so werden sie gelb, nicht aber, wenn die anorganischen Phosphate vor Anwendung der Lösung entfernt worden sind. Schnitte aus Alkoholmaterial von Froschhoden, Knochenmark, Leber, Pankreas, Gehirn wurden nach Entfernung der anorganischen Phosphate mehrere Tage bei 37° mit dem Molybdänreagens behandelt. Sie färbten sich nicht gelb. Die Kerne frischer Blutkörperchen von Triton färbten sich nicht gelb, selbst nach 4—5 tägiger Behandlung. „Lecithinverbindungen“ färben sich weder mit dem salpetersauren noch mit dem salzsauren Molybdänreagens gelb. Wenn man aber kleine Mengen Lecithin in eines dieser Reagentien einträgt „one finds after a few days a crop of phosphomolybdate crystals on the sides of the flask. This shows there is no localizing action, and that even from such compounds as lecithin the first effect of the reagent is to liberate some soluble compound of phosphorus which, however, is not acted upon by the reagent until it is further hydrolysed“.

Scott hat sodann unter Benutzung der Methoden von Bayliss und Plimmer¹⁾ in Gemeinschaft mit letzterem auf makrochemischem Wege nachgewiesen, daß aus Rinderhoden durch Salzsäure oder Salpetersäure wohl die Hauptmenge des „organischen“ Phosphors in löslicher Form frei gemacht werden kann, aber „this soluble phosphorus compound does not react with either the nitric or the hydrochloric molybdate reagent“.

Den Ausführungen von Bensley und Scott gegenüber hat Macallum wiederum versucht, seine Methode zu verteidigen²⁾, es kann indessen nicht zugegeben werden, daß dies mit Erfolg geschehen sei.

Bensley gegenüber beschränkt Macallum sich auf die Bemerkung: „Man kann jedoch annehmen, daß ein so verdünntes redu-

¹⁾ The journal of Physiology, Vol. XXXIII p. 439, 1906.

²⁾ Macallum, The action of nitric acid on the phosphorus of nucleoproteids and paranucleoproteids. (Proc. Soc. for experimental Biology and medicine New York, Vol. 4 p. 70, 1907.) Macallum, Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, Jahrg. 7, 1908.)

zierendes Reagens wie 0,1proz. Phenylhydrazinlösung in 16proz. Salpetersäure kein Beweis letzter Instanz ist und daß man verschiedene Resultate mit stärkeren Phenylhydrazinlösungen (mehr als 1 Proz.) und Säuren hätte erhalten können.“ Demgegenüber ist daran zu erinnern, daß die von Bensley gewählte Konzentration doch nachweislich ausgereicht hat, um die Reduktion von Phosphomolybdat in den Geweben zu bewirken.

Scott gegenüber betont Macallum zunächst, daß aus dem Fehlen der Gelbfärbung in Geweben nach ihrer Behandlung mit dem salpeter- oder salzsauren Molybdänreagens nicht auf die Abwesenheit von Phosphormolybdänverbindungen geschlossen werden dürfe, da auch die Entstehung „weißer“ Phosphormolybdänverbindungen möglich sei.¹⁾ Sodann weist Macallum darauf hin, daß die Befreiung des Phosphors in Form von Phosphorsäure aus organischen Atomkomplexen (Nukleinsäuren usw.) schon verschiedenen Forschern unter Verwendung von Salzsäure oder Salpetersäure gelungen sei. Er selbst habe aus Pankreasnukleoproteid und aus Hefenukleinsäure durch Behandlung mit Salpetersäure leicht nachweisbare Mengen von Phosphorsäure erhalten, nicht aber aus Kaseinogen.

„In dünnen Gewebeschnitten (meint Macallum) hat oder sollte die freimachende Säure wegen der Empfänglichkeit der darin enthaltenen Nukleinverbindungen eine ebenso große Wirkung haben, wie in den isolierten, gereinigten Nukleinverbindungen.“

Das ist nicht richtig, jedenfalls unvereinbar mit den von Raciborski, Iwanoff, Bensley, Scott und mir mitgeteilten Beobachtungen, aus welchen sich ergibt, daß die in der Zelle vorhandenen Verbindungen sich anders verhalten können, als die aus denselben dargestellten Präparate. Unrichtig ist auch die in seiner letzten Publikation aufgestellte Behauptung Macallum's, daß seine Methode es ihm ermöglicht habe, „das Fehlen anorganischer Phosphate in den Kernen der tierischen und pflanzlichen Zellen festzustellen“. Wie aus den Angaben von Hansen, Raciborski, Iwanoff und auch Macallum's (vgl. l. c. 1898, p. 474) hervorgeht, brauchen die Phosphomolybdatniederschläge in der Zelle nicht an denselben Orten aufzutreten, an welchen sich im Leben etwaige Phosphate befunden haben. Ferner ist auch in diesem Zusammenhange nochmals auf die Hindernisse hinzuweisen, welche einer sicheren Unterscheidung des Phosphors aus anorganischen Phosphaten und organischen Atomkomplexen entgegenstehen. Denn wenn auch feststeht, daß sich in diesen Atomkomplexen der Phosphornachweis mit Macallum's Methoden allgemein nicht führen läßt, so ist doch die Möglichkeit nicht aus-

¹⁾ Macallum verweist hier auf Friedheim, Beiträge zur Kenntnis der komplexen Säuren, VI. (Zeitschr. f. anorg. Chemie, Bd. 4, 1893.)

geschlossen, daß hier in besonderen Fällen die Abspaltung des Phosphors in der erstrebten Form gelingt.

Das Ergebnis der zahlreichen, zum Teil in schwer zugänglichen Zeitschriften zerstreuten Arbeiten ist mithin ein negatives. Eine zuverlässige Methode zur Ermittlung der Verteilung des Phosphors in der Zelle besitzen wir noch nicht.

Nachweis des Eisens in den Geweben.

Für die Frage nach der Lokalisation der eisenhaltigen Substanzen in der Zelle ist der Umstand von wesentlicher Bedeutung, daß das Eisen im Organismus in sehr verschiedener Bindung vorkommt.¹⁾

Erich Meyer²⁾ registriert ein Vorkommen 1. in fester, durch Eisenreagenzien ohne Aufspaltung des ganzen Moleküls überhaupt nicht nachweisbarer Form (Typus Hämoglobin)³⁾; 2. in lockerer organischer Bindung, in der es nach längerer Einwirkung von Schwefelammonium nachweisbar wird (Typus Ferratin; auch das Hämatogen Bunge's gehört hierher); 3. als Eisenoxydsalz, als welches es durch Eisenreagenzien ohne weiteres nachgewiesen werden kann (zu dieser Gruppe gehören außer anorganischen Salzen auch die salzartigen Verbindungen der Eiweißkörper mit dem Eisen).

Es ist klar, daß, wenn in einem Organ durch Einwirken von Eisenreagenzien Eisen direkt nachweisbar ist, es sich je nach der Intensität und Geschwindigkeit, mit der die Reaktion eintritt, nur um ferratinartige oder salzartige Eisenverbindungen handeln kann.

Der direkte Nachweis des Eisens im Organismus ist, und zwar makroskopisch, wie von verschiedenen Autoren angegeben wird, zuerst von August Mayer⁴⁾ geführt worden, der sich einer Mischung von Schwefelammonium und Ammoniak bediente.

¹⁾ Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, p. 416. Vgl. auch Baldoni, Ein Beitrag zur biologischen Kenntnis des Eisens. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 52, 1905.)

²⁾ Erich Meyer, Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, Jahrg. V Abt. 1 u. 2, 1906, p. 722.)

³⁾ Im Harn ist die Bindung des Eisens zum Teil eine außerordentlich feste, so daß sie selbst mit chloresurem Kali und Salzsäure nicht vollständig gelöst werden kann. „Der größte Teil des Harneisens ist normalerweise fest gebunden, und auch nicht durch 24 stündiges Erhitzen mit Schwefelammonium abspaltbar; er ist erst nach Veraschung und Lösung in Mineralsäuren bestimmbar.“ (Erich Meyer, l. c. p. 705.)

⁴⁾ Augustus Mayer, De ratione qua ferrum mutetur in corpore. Dissertatio inauguralis, Dorpat 1850, p. 11, 47 u. a. a. O.

Nach Zaleski¹⁾ war J. Vogel²⁾ der erste, der im Jahre 1845 zum direkten Nachweis des Eisens in den Organen dieselben unmittelbar mit Schwefelammonium behandelte. Das ist, insoweit ich habe feststellen können, nicht ganz richtig. Vogel erwähnte ein „pathologisch gebildetes, körniges Pigment“, welches aus Schwefeleisen bestand. Dieses Pigment löste sich in Säuren und kam „durch Übersättigung der sauren Lösung mit hydrothionsaurem Ammoniak in seiner ursprünglichen Form wieder zum Vorschein“.

Rhodankalium verwendeten Weiß und Julius Wiesner³⁾ zum direkten Nachweis des Eisens in der Pflanzenzelle. Sie sahen das Auftreten roter Färbungen in den Membranen und Inhalten verschiedener Zellen.

Später verwendete Quincke⁴⁾ zum mikrochemischen Nachweis des Eisens in den Geweben Schwefelammonium oder Salzsäure und Ferrocyankalium, nachdem letzteres Reagens auch schon von Grohe⁵⁾ zum mikrochemischen Eisennachweis benutzt worden war. Eine ausgedehntere Durcharbeitung und Verwendung erfuhr die Blutlaugensalzreaktion durch Schneider.⁶⁾ Er behandelte die Gewebe zunächst mit stark verdünnter Blutlaugensalzlösung und darauf mit Salzsäure: „Wirkt die Säure zu lange ein oder ist sie zu konzentriert, so kann aus dem Blutlaugensalze allein schon unter dieser Einwirkung die sog. Eisenblausäure und hieraus wieder unter dem Einflusse atmosphärischen Sauerstoffes Berlinerblau entstehen, was dann leicht zu groben Täuschungen Veranlassung gibt.“

In einem Aufsatze über „die Vereinfachung von makro- und mikrochemischen Eisenreaktionen“ hat dann Zaleski⁷⁾ die Reaktionen mit Blutlaugensalz, Rhodankalium und Schwefelammonium behandelt. Von Interesse sind namentlich seine Angaben hinsichtlich der Schwefel-

¹⁾ Zaleski, Studien über die Leber. (Zeitschr. f. Physiol. Chemie, Bd. X, 1886, p. 479.)

²⁾ Vogel, Pathologische Anatomie, 1845, p. 163.

³⁾ Weiß und Julius Wiesner, Über die direkte Nachweisung des Eisens in den Zellen der Pflanzen. (Sitzungsberichte d. K. Akad. der Wissensch., Mathem.-naturw. Kl., Bd. 40 p. 276, Wien 1860.)

⁴⁾ Quincke, Über das Verhalten der Eisensalze im Tierkörper. (Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftl. Medizin, 1868, p. 758.)

⁵⁾ Grohe, Beiträge zur pathologischen Anatomie und Physiologie. (Virchow's Archiv, Bd. 20, 1861, p. 312.) Vgl. auch Perls, Nachweis von Eisenoxyd in gewissen Pigmenten. (Virchow's Archiv, Bd. 39, 1867, p. 42.)

⁶⁾ Schneider, Über Eisenresorption in tierischen Organen und Geweben. (Abhandl. d. K. Akad. d. Wiss. zu Berlin, 1888, p. 58.)

⁷⁾ Zaleski, Die Vereinfachung von makro- und mikrochemischen Eisenreaktionen. (Zeitschr. für physiologische Chemie, Bd. 14, 1890.) Vgl. p. 10, ferner: Zaleski, Zur Pathologie der Zuckerharnruhr. (Virchow's Archiv, Bd. 104, 1886, p. 105.) Zaleski, Das Eisen der Organe bei Morbus maculosus Werlhoffii. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 23, 1887, p. 83.)

ammoniumreaktion. Folgende Methode wird empfohlen: Kleine Gewebestücke werden aus 65proz. Alkohol in 96proz. Alkohol übergeführt, welchem etwas gelbes Schwefelammonium zugesetzt worden ist. Dabei muß für Luftabschluß gesorgt werden, damit die Reaktion nicht durch den oxydierenden Einfluß der Luft beeinträchtigt werde. Nach 24 Stunden werden die Gewebestücke in absoluten, wiederum mit etwas gelbem Schwefelammonium versetzten Alkohol gebracht und können dann geschnitten werden.

Sehr eingehend hat sich in mehreren Arbeiten Macallum¹⁾ mit dem mikrochemischen Nachweis des Eisens in der Zelle beschäftigt und zwar namentlich mit dem Nachweis durch Schwefelammonium.

Das in 70proz. Alkohol fixierte Gewebe bringt Macallum auf den Objektträger in frisch bereitetes „Ammoniumsulfid“. Nach Auflegen des Deckglases läßt er (um das Eintrocknen des Präparates zu verhindern) einen Tropfen Glyzerin hinzufließen und verwahrt das Präparat dann längere Zeit bei einer Temperatur von 60° C. Mancherlei Bedingungen scheinen das Eintreten der Reaktion (hellgrüne, grünlich-blaue, dunkelgrüne oder schwarze Färbung) zu befördern oder zu verzögern. Die für das Eintreten der Reaktion erforderliche Zeit kann bei Präparaten aus demselben Organ beträchtlich variieren. Das tiefgelbe Sulfid gibt keine Reaktion, während das frisch bereitete Reagens sehr wirksam ist.²⁾ Das Vorhandensein von Eisenalbuminaten oder anorganischen Eisenverbindungen wird durch augenblickliches Eintreten der Reaktion angezeigt. Man kann das Eisen dieser Substanzen durch Extraktion mit einer Mischung von 90 Vol. 96proz. Alkohol und 10 Vol. 25proz. Salzsäure (Bunge'sche Flüssigkeit) entfernen.

Um zu zeigen, daß die besonders in den Zellkernen auftretende grüne oder grünlich-schwarze Verbindung Schwefeleisen sei, wäscht Macallum das Glyzerin-Ammonsulfid aus den Präparaten durch eine Mischung von Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen aus. Dann fügt er eine Mischung von verdünnter Salzsäure und Kaliumferri-cyanid hinzu, worauf die vorher grünen oder grünlich-schwarzen Zellkerne himmelblau werden.

„In no case was it found that the immediate application of the acid reagent mentioned, or of acid ferrocyanide solution, gave the

¹⁾ Macallum, On the demonstration of the presence of Iron in chromatin by Microchemical methods. (Proceedings of the Royal Soc. of London, 1892, Vol. L p. 277.) Vgl. auch: Macallum, On the Absorption of iron in the animal body. (The Journal of Physiology, Vol. XVI, 1894.)

²⁾ Nach Quincke (Über direkte Eisenreaktion in tierischen Geweben. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 37, 1896, p. 185) „ist frisch bereitetes, noch farbloses Reagens nicht so brauchbar, wie das ältere, gelb gewordene der Laboratorien“.

slightest reaction with those species of nuclei which required a more or less lengthly contact with ammoniumsulphide in order to develop the iron reaction. In every particular instance referred to, the latter reagent had to be employed to decompose the chromatin, and set free its iron as sulphide, and the acid mixtures then, and then only, gave a deep azure-blue colour.“

Macallum teilt mit, daß er mit seiner Methode im Chromatin einer größeren Anzahl tierischer und pflanzlicher Gewebe Eisen nachweisen konnte. Die Eisenreaktion beschränkte sich übrigens nicht auf die chromatischen Teile der Zellkerne. Bei der Verwendung der Methode Macallum's zum Eisennachweis ist, wie schon aus den Angaben am Eingang dieses Abschnitts hervorgeht, zu berücksichtigen, daß ein negativer Erfolg den Schluß auf Abwesenheit von Eisen nicht zuläßt.

Daß der Grad der Färbung mit Schwefelammon (sagt Quincke¹⁾) nur von der Menge des locker gebundenen Eisens abhängt und daher einen Schluß auf den absoluten Eisengehalt des Organes nicht ohne weiteres zuläßt, liegt auf der Hand. Gerade Hämoglobin, Methämoglobin, Hämatin und eine Anzahl nicht näher bekannter Eisenverbindungen reagieren nicht auf Schwefelammon. Dagegen gehören zu den direkt reagierenden Eisenverbindungen das Ferratin und andere in der Leber vorkommende Eisenalbuminate, das Hämatogen im Eidotter und die unter dem Namen Hämosiderin zusammengefaßten Abkömmlinge roter Blutkörper. Also nur auf die Gegenwart resp. Vermehrung dieser letzteren oder verwandter Körper weist die Eisenreaktion hin.

Eine eisenreiche Verbindung, welche mit Schwefelammon und Ammoniak keine Eisenreaktion gab, erhielt Abderhalden²⁾ aus Spinat.

Hall³⁾ konnte bei seinen Untersuchungen in ganz jungen Mäusen auf mikrochemischem Wege überhaupt kein Eisen nachweisen, „obgleich die Analyse ihren Gesamteisengehalt prozentisch nicht wesentlich niedriger als den erwachsener Tiere auswies. Ihr Eisen muß daher in sehr festen organischen Verbindungen enthalten sein, aus denen es nicht durch die gewöhnlichen Reagenzien (NH_4SH oder HCl) abgespalten werden kann, sondern nur durch die Zerstörung dieser Verbindungen“.

¹⁾ Quincke, Über direkte Eisenreaktion in tierischen Geweben. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 37, 1896, p. 187.)

²⁾ Abderhalden, Die Resorption des Eisens. (Zeitschrift für Biologie von Kühne und Voit, 1900, p. 151.)

³⁾ Hall, Über das Verhalten des Eisens im tierischen Organismus. (Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abteilung, Jahrg. 1896.)

Allgemein bemerkt Abderhalden¹⁾: „Wir dürfen vor allem nicht außer acht lassen, daß mikrochemische Reaktionen nur einen beschränkten Wert haben. Sie geben uns nur ein qualitatives Bild der Verteilung bestimmter Verbindungen, niemals aber Aufschluß über die Mengenverhältnisse. Beim Eisen ist auch der qualitative Nachweis ein nur sehr bedingter. Wir haben schon betont, daß z. B. im Hämatin das Eisen mit den gewöhnlichen Reagenzien nicht nachweisbar ist und daß es im Hämatogen erst nach einiger Zeit sichtbar wird. Wir können uns wohl vorstellen, daß der tierische Organismus Verbindungen neben Hämatin enthält, die das Eisen gleichfalls fester gebunden enthalten, so daß aus dem Fehlen einer Eisenreaktion noch lange keine Rückschlüsse auf den Eisengehalt eines Gewebes gezogen werden dürfen. Andererseits gestattet der negative Ausfall einer Eisenreaktion bei durch andere Methoden (Veraschung) nachgewiesenem Eisengehalt noch durchaus keinen Schluß auf die Art der Bindung. Wir haben bereits darauf hingewiesen, daß im tierischen Organismus die Kolloide eine große Rolle spielen und betont, daß sie imstande sind, scheinbar den Eintritt einer Reaktion zu verhindern. So bleibt in kolloidalen Lösungen oft die Niederschlagsbildung aus. Trotzdem hat die Reaktion stattgefunden. Der Niederschlag kommt nur nicht zur Beobachtung, weil das Kolloid infolge seiner großen inneren Reibung die Beweglichkeit der einzelnen Teilchen so vermindert, daß sie nicht zu größeren Komplexen zusammentreten können. Dieser Punkt ist vielfach noch zu wenig gewürdigt worden. Viele der Eisen in fester „organischer“ Bindung enthaltenden Verbindungen tragen diese Bezeichnung nicht mit Recht.“

Endlich ist es für die Beurteilung eines negativen Ausfalles der Eisenreaktion bei der Untersuchung eines mikroskopischen Schnittes von Wichtigkeit, zu berücksichtigen, daß Mengen von Schwefeleisen, die in dickeren Schnitten noch erkannt werden können, in dünneren nicht mehr sichtbar werden.²⁾

Dementsprechend betont Zaleski³⁾, daß es viel leichter sei, „die dunklere, verschwommene Farbe eines ganzen Gewebestückes zu erkennen, als die weniger intensive eines mikroskopischen Schnittes“.

Führt die Untersuchung auf Eisen zu einem positiven Ergebnis, so ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das nachgewiesene Eisen den verwendeten Reagenzien und Gläsern entstammt. Lehrreich sind

¹⁾ Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, p. 420. Vgl. auch p. 388.

²⁾ Sattler, Über Eisenresorption und Ausscheidung im Darmkanal bei Hunden und Katzen. Diss. Kiel 1904.

³⁾ Zaleski, Studien über die Leber. (Zeitschr. für Physiol. Chemie, Bd. X, 1886, p. 482.) Zaleski, Zur Pathologie der Zuckerharnruhr und zur Eisenfrage. (Virchow's Archiv, Bd. 104, 1886, p. 97.)

hier die Erfahrungen von Molisch.¹⁾ Molisch's Methode zum Nachweis des in organischen Substanzen fest gebundenen („maskierten“) Eisens „bestand darin, daß man die zu prüfenden Objekte längere Zeit in wässriger gesättigter Kalilauge liegen läßt und dann nach dem Auswaschen in reinem Wasser den gewöhnlichen Eisenreaktionen, am besten der Ferrocyankaliumprobe, unterwirft“. Molisch hatte das reinste Kaliumhydroxyd des Handels verwendet, welches keine nachweisbaren Mengen von Eisen enthielt.

Demgegenüber hat Meyer betont, daß in solchem Kaliumhydroxyd dennoch sehr kleine Eisenmengen vorkommen können, welche von Teilen der Zelle aus Lösungen aufgespeichert werden können. Dieser Auffassung ist dann Molisch auf Grund einer Nachprüfung beigetreten. Carl Müller²⁾ hingegen fand in reinem Kaliumhydroxyd in Stangenform, aus der Schering'schen Apotheke in Berlin bezogen, bei Versuchen mit frisch hergestellten Lösungen kein Eisen. Wohl aber ließen sich Eisenspuren nachweisen, nachdem die Lauge etwa $\frac{1}{2}$ Stunde in einem sorgfältig gereinigten Glasgefäße gestanden hatte. Auf Grund einer Reihe mit großer Sorgfalt ausgeführter Versuche „glaubte Müller erwiesen zu haben, daß das von Molisch angeblich demaskierte Eisen nicht den Objekten und auch nicht dem angewandten käuflichen Kaliumhydroxyd entstammte, daß es vielmehr den zur Aufbewahrung der Kalilösungen benutzten Gläsern entzogen worden ist“.

Von Interesse für die hier in Betracht kommenden Fragen ist ferner der von Müller erbrachte Nachweis, daß sich auch bei der Beschickung reiner Reagenzgläser mit Blutlaugensalz und Salzsäure nach einigem Stehen Berlinerblau bildet und zwar zum Teil auf Grund von Eisen, welches die Salzsäure dem Glase entzogen hat, zum Teil aber auch auf Grund von Umsetzungen in der Blutlaugensalzlösung selbst.

Nachdem schon Schneider (vgl. weiter oben p. 125) auf entsprechende Vorgänge bei der Untersuchung von Geweben hingewiesen hatte, ist das später auch von anderen Seiten mehrfach geschehen.

Gelangt von außen Eisen in die Präparate oder finden während der Herstellung der Präparate Verschiebungen des in diesen vorhandenen Eisens statt, so können die Präparate selbstverständlich

¹⁾ Molisch, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892. Arthur Meyer, Besprechung der obigen Arbeit. (Flora, 1892, Ergänzungsband p. 292.) Molisch, Bemerkungen über den Nachweis von maskiertem Eisen. (Berichte der Deutschen Botan. Gesellsch., 1893.)

²⁾ Carl Müller, Kritische Untersuchungen über den Nachweis maskierten Eisens in der Pflanze und den angeblichen Eisengehalt des Kaliumhydroxyds. (Berichte d. Deutschen Botan. Gesellsch., 1893.)

keinen Aufschluß über die Lokalisation von Eisenverbindungen in der lebenden Zelle gewähren.

Gilson¹⁾ fand, daß „totes Nuklein“ eine sehr starke Affinität zu Eisenverbindungen hat und daß auch andere in der Zelle vorkommende Substanzen Eisen in ähnlicher Weise anziehen. „The nuclei of freshly extracted cells, when steeped in a solution of sulphate of iron (FeSO_4), even as weak as 1 for 2,000 parts of water, take with ammonium sulphide or potassium ferricyanide a much more intense colouration than they did before, when simply treated with sulphuric acid.“

Es mag an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß hinsichtlich des Vorkommens von Eisenverbindungen in Zellkernen die Angaben verschiedener Autoren wesentlich voneinander abweichen. Allerdings sind auch die zum Nachweis verwendeten Methoden nicht identisch.

Schneider²⁾ untersuchte die Verteilung des durch Ferrocyankalium und stark verdünnte Salzsäure direkt nachweisbaren Eisens in seinen Objekten und glaubte eine Aufspeicherung des Eisens besonders in den Zellkernen (und zwar in einer „bestimmten Inhaltszone, die wohl nur als Nucleolus oder Kerngerüst angesprochen werden kann“) festgestellt zu haben. Übrigens betont Schneider, wie schon in früheren Arbeiten, daß „aus dem gelben Blutlaugensalz unter dem Einflusse der Salzsäure Berlinerblau künstlich ausgeschieden und hinterher als angeblich natürlich resorbiertes Eisen irgendwo aufgefunden werden könne, wenn nicht die äußerste Vorsicht obwalte.“³⁾

Quincke⁴⁾ hält die Berlinerblaureaktion auch bei vorsichtiger Durchführung unter Umständen für sehr bedenklich.⁵⁾ Er findet es auffällig, daß Schneider auf Grund der Berlinerblaureaktion so häufig Eisen in tierischen Zellkernen konstatieren konnte, während

¹⁾ Gilson, On the affinity of nuclein for iron and other substances. (Report of the British Association for the advancement of Science, 1892, p. 778.)

²⁾ Schneider, Die neuesten Beobachtungen über natürliche Eisenresorption in tierischen Zellkernen und einige charakteristische Fälle der Eisenverwertung im Körper von Gephyreen. (Mitteilungen aus der zoolog. Station zu Neapel, Bd. 12, 1897.)

³⁾ Vgl. auch List, Beiträge zur Chemie der Zelle und Gewebe. (Mitteilungen aus der zoologischen Station zu Neapel, Bd. 12, 1897, p. 481.)

⁴⁾ Quincke, Über direkte Fe-Reaktion in tierischen Geweben. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 37, 1896.)

⁵⁾ Schon 1880 (Zur Pathologie des Blutes. Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 27 p. 215) bemerkte Quincke: „Wegen der eiweißkoagulierenden Wirkung der Mischung (Ferrocyankalium + Salzsäure) tritt die Färbung schwieriger auf, auch wird sie leichter diffus (bei längerem Liegen kann diffuse Blaufärbung sogar durch teilweise Zersetzung des Salzes entstehen). Diese Diffusion in die Umgebung der Fe-haltigen Körner mag darauf beruhen, daß das gebildete Berlinerblau in der eiweißhaltigen sauren Flüssigkeit doch nicht ganz unlöslich ist.“

ihm selbst „in seinem allerdings beschränkteren Untersuchungsgebiet mit NH_4S niemals Eisenreaktion der Kerne vorgekommen ist“¹⁾.)

Quincke bildet einen mit Ferrocyankalium und Salzsäure behandelten Schnitt von der Magenschleimhaut des Frosches ab. „Hier sieht man gruppenweise im Präparat verteilt teils die Kernkörperchen blau gefärbt, teils die Kerne der Epithelzellen mit feinsten blauen Körnchen erfüllt, während mit NH_4S behandelte Schnitte keine Spur von Fe-Reaktion zeigen. Auch die Kernkörperchen in Bindegewebszellen und glatten Muskeln zeigten in dem gleichen Präparat Blaufärbung, ebenso die von manchen Epithelien des Duodenums, des Dünn- und Dickdarms. In letzterem war diese Pseudo-Fe-Reaktion der Kernkörperchen besonders da am deutlichsten, wo in der Umgebung wirklich Fe-haltige Zellen sich fanden.“

Quincke ist der Meinung, daß von den Zellkernen, welche die Berlinerblaureaktion zeigten, „eine Attraktion auf dasjenige Eisen stattgefunden hatte, welches in den Zellen ungebunden enthalten oder durch Zersetzung aus Ferrocyankalium freigeworden war; dies Eisen hat dann mit dem überschüssigen Ferrocyankalium Berlinerblaureaktion gegeben“. Zur Stütze seiner Auffassung berichtet Quincke über einen Versuch von Dr. B. Salomon: „Schnitte der gehärteten Magenschleimhaut vom Hund wurden zuerst für kurze Zeit in Eisenchloridlösung, dann nach Abspülen in NH_4S gelegt. Es trat dann schöne Kernfärbung durch Schwefeleisen ein. Das Eisen war also aus der Lösung von den Kernen besonders angezogen worden. Verfuhr man so mit frischer Schleimhaut, so blieben gerade die Kerne ungefärbt.“)

Wie schon Quincke, so erhielt auch Sattler²⁾ mit Blutlaugensalz Eisenreaktion in Kernen, welche auf Schwefelammonium nicht reagierten. Sattler verfuhr nach einer von Tartakowski³⁾ angegebenen Methode. Letzterer fand mit Blutlaugensalz in Präparaten aus verschiedenen Organen des Kaninchens Blaufärbungen des Protoplasmas, während die Kerne schwächer oder gar nicht gefärbt waren. In den Kernen kamen diffuse Färbungen vor, auch zeigten sich blaue Körnchen.

Auch Samojloff's Versuche mit Blutlaugensalz hatten teils positives, teils negatives Ergebnis, er ist jedoch der Meinung, daß die von anderer Seite gegen die Zuverlässigkeit der Blutlaugensalzreaktion erhobenen Bedenken nicht stichhaltig seien.

¹⁾ Vgl. auch Hochhaus und Quincke, Über Eisenresorption und Ausscheidung im Darmkanal. (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 37, 1896, p. 167.)

²⁾ Sattler, Über Eisenresorption und Ausscheidung im Darmkanal bei Hunden und Katzen. (Diss. Kiel 1904.)

³⁾ Tartakowsky, Die Resorptionswege des Eisens beim Kaninchen. Eine mikrochemische Studie. (Pflüger's Archiv, Bd. 100, 1903.)

Samojloff¹⁾ härtete die Organe in Alkohol von steigender Konzentration, bettete in Kollodium ein und behandelte dann die Schnitte nach Schneider: „Die Präparate kamen zuerst $\frac{1}{2}$ Stunde oder länger in Ferrocyankalium (1,5proz.), dann wurden sie während einer Minute der Salzsäurewirkung (0,45proz.) ausgesetzt und nachher gründlich mit Aq. dest. abgespült. Hinsichtlich der angefochtenen Zuverlässigkeit dieser Reaktion bemerkt Samojloff: „Das Schlimmste, was passieren kann, ist die HCl-Einwirkung auf das Ferrocyankalium, wodurch eine Blaufärbung der Lösung resultiert; nimmt man aber recht schwache Lösungen, so ist die Blaufärbung kaum zu bemerken, so daß von einer Einwirkung auf das Präparat und eventuellen Kunstprodukten keine Rede sein kann.“²⁾ Versuche, welche zur Kontrolle mit $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ an denselben Objekten angestellt wurden, ergaben dieselben Resultate hinsichtlich des Fe-Gehaltes, wie die Ferrocyankaliumbehandlung. „Die vielversprechende Methode von Zaleski (Zeitschrift für physiologische Chemie, 14, 1889, p. 274), die Eisenreaktion an großen Organstücken zugleich mit der Härtung vorzunehmen, mußte ich nach einigen mißlungenen Versuchen aufgeben.“

Samojloff untersuchte Leber und Darm nach subkutaner Eiseninjektion bei Fröschen und Katzen und bemerkt hinsichtlich der Leukocyten: „Was das Nähere der Eisenaufnahme anbelangt, so habe ich mich an Fröschen überzeugen können, daß zuerst das Eisen in feinkörniger Form im Protoplasma anzutreffen ist, während der Kern eisenfrei bleibt; später dagegen ist das Protoplasma diffus vom Eisen durchtränkt und die Hauptmenge hat im Kern ihren Sitz. Dieses Wandern des Eisens vom Protoplasma zum Kern ist auch für die Katzenleber anzunehmen.“

Kein Eisen konnte in den Zellkernen durch Minkowski und Naunyn, Valentini, Kowalevsky und Carazzi mit Blutlaugensalz nachgewiesen werden.

Minkowski und Naunyn³⁾ bilden in Fig. 3 einen Schnitt aus der Leber einer Ente (Spirituspräparat) ab, welche vor der Exstirpation der Leber Arsenwasserstoff inhaliert hatte. Der Schnitt ist zunächst mit Ferrocyankalium und Salzsäure behandelt und dann mit Fuchsin gefärbt worden. Die Kerne, namentlich der Blutkörper-

¹⁾ Samojloff, Beiträge zur Kenntnis des Verhaltens des Eisens im tierischen Organismus. (Arbeiten des Pharmakolog. Instituts zu Dorpat, herausgegeben von Kobert, Bd. IX, 1893.) Vgl. auch Lipski, Über die Ablagerung und Ausscheidung des Eisens aus dem tierischen Organismus. (Ebenda.)

²⁾ Vgl. auch Hári, Über Eisenresorption im Magen und Duodenum. (Archiv für Verdauungskrankheiten, Bd. 4, 1898, p. 170.)

³⁾ Minkowski und Naunyn, Beiträge zur Pathologie der Leber und des Ikterus. (Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 21, 1886.)

chen in den Kapillaren, sind rot gefärbt und zeigen keine Eisenreaktion, wohl aber finden sich im Plasma der Leberzellen mehr oder weniger zahlreiche blaue Körnchen.

Valentini¹⁾ erhielt bei Schildkröten, welche mit Arsenwasserstoff vergiftet waren, ebenfalls in Leberzellen mit Ferrocyankalium und Salzsäure Blaufärbungen, welche nicht den Kern betrafen. Es wurde Alkoholmaterial verwendet. Nach subkutaner Eiseninjektion kam es allerdings „mitunter“ vor, „daß gerade der Kern und seine nächste Umgebung stark gefärbt waren“.

Kowalevsky²⁾ benutzte zum Nachweis absorbierter Eisensalze Schneider's Methode: „On traite les tissus, ou mieux les coupes des organes qu'on étudie, avec une solution de ferrocyanure de potassium à 1,5 % pendant 15—30 Minutes et puis on les lave avec de l'acide chlorhydrique à 0,5 %.“ Kowalevsky's Figuren zeigen Berlinerblau nur außerhalb der Zellkerne. Wenn Carazzi³⁾ bei der Verwendung von Blutlaugensalz kein Eisen in den Kernen auffand, so kann dies, wie Macallum⁴⁾ ausführt, der Besonderheit seines Verfahrens zugeschrieben werden.

Wie Quincke so fanden mehrfach auch Hall, Hoffmann und Abderhalden kein Eisen in den von ihnen mit Schwefelammon geprüften Kernen.⁵⁾ Hall⁶⁾ fand bei seinen Untersuchungen an weißen Mäusen, insoweit sich das aus seinen Abbildungen und dem Texte ersehen läßt, keine Eisenreaktion in den Kernen, obwohl er Schwefelammon bei Bruttemperatur bis zu zwölf Stunden einwirken ließ.

Abderhalden⁷⁾ verwendete nur frische Gewebe. Diese gaben sehr oft mit Schwefelammonium allein erst nach mehreren Stunden, oft aber auch gar keine deutliche Eisenreaktion. Durch Zusatz von Ammoniak wurden dann bessere Resultate erreicht. Entsprechend den Angaben von Quincke für andere Objekte erhielt Abder-

¹⁾ Valentini, Über die Bildungsstätte des Gallenfarbstoffes beim Kaltblüter. (Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 24, 1888.)

²⁾ Kowalevsky, Étude des Glandes lymphatiques. (Archives de Zoologie expérimentale et générale, Troisième série, T. III, Paris 1895.)

³⁾ Carazzi, Ricerche sull'assorbimento del ferro nell'Ostrea edulis. (Internationale Monatsschrift für Anatomie u. Physiologie, Bd. XIV, 1897.)

⁴⁾ Macallum, Die Methoden u. Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 7. Jahrg., 1908, p. 590, Anm.)

⁵⁾ Vgl. hingegen: Glaeveke, Über subkutane Eiseninjektionen. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 17, 1883, p. 468.)

⁶⁾ Hall, Über das Verhalten des Eisens im tierischen Organismus. (Archiv für Anatomie u. Physiologie, Physiol. Abtlg., Jahrg. 1896.) Näheres über Hall's Untersuchungsmethode vgl. weiter unten.

⁷⁾ Abderhalden, Die Resorption des Eisens. (Zeitschr. für Biologie von Kühne und Voit, 1900.)

halden im Duodenum des Hundes keine Eisenreaktion in den Kernen des Epithels.

Über das Duodenum eines Mannes, welches nach Eisengaben mit Schwefelammonium behandelt worden war, berichtet A. Hofmann¹⁾: „Sehr reichliche Epithelien der oberen Zottenhälfte enthalten die bereits erwähnten feinsten dunkelgrünen oder schwarzen Körnchen, die meist den über dem Zellkern gelegenen Teil erfüllen, in einzelnen aber auch die ganze Zelle besetzt haben.“ Von einer Färbung der Kerne wird nichts erwähnt. Auch die Figuren sprechen nicht dafür, daß sie vorhanden war. p. 501 heißt es aber ausdrücklich: „Zotten, deren Epithelien noch gut erhalten waren, zeigten diese mehr oder weniger erfüllt von feinsten schwarzen Körnchen, während das Protoplasma und der Kern selbst farblos war.“

Hofmann präparierte seine Objekte wie folgt: Die Gewebe gelangten nach Abspülung in physiologischer Kochsalzlösung in 70proz. Alkohol, dem nach Halls Angaben etwas Schwefelammonium zugesetzt war, am nächsten Tage wurden sie in absoluten Alkohol gebracht, dann in Paraffin eingebettet und geschnitten. Nach Entfernung des Paraffins gelangten die Schnitte auf etwa $\frac{3}{4}$ Stunden in Schwefelammon, wurden darauf kurz in destilliertem Wasser abgespült und in Glyzerin betrachtet.

Die Möglichkeit einer Verschiebung des Eisens in den Zellen oder einer Entfernung des Eisens aus den Geweben während der Herstellung der Präparate, auf welche Quincke hingewiesen hat, ist auch von anderen Seiten ins Auge gefaßt worden. Sind die Eisenverbindungen der Zelle in den verwendeten Reagentien in Wasser oder im Zellsaft löslich, so ist es nicht unmöglich, daß während des Absterbens der Zellen, während des allmählichen Eindringens der Reagentien, Verhältnisse eintreten, die eine Verschiebung des Eisens, z. B. aus anderen Teilen der Zelle in das Chromatin des Zellkerns (vgl. die Angaben von Gilson p. 130) bewirken.

Es ist hier zunächst daran zu erinnern, daß, wie weiter oben ausgeführt wurde, eisenhaltige Proteinstoffe von verschiedenen Forschern durch Behandlung von Geweben mit Wasser gewonnen wurden. Ferner teilt Baldoni²⁾ mit, daß ein Teil des Eisengehaltes von *Cetraria islandica* durch Wasser ausgezogen werde, und daß ebenso ein Teil des im Spinat vorhandenen Eisens in den Wasserauszug übergehe,

¹⁾ A. Hofmann, Über Eisenresorption und Ausscheidung im menschlichen und tierischen Organismus. (Virchow's Archiv, Bd. 151 p. 498 1898.)

²⁾ Baldoni, Ein Beitrag zur biologischen Kenntnis des Eisens. (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 52, 1905.)

„in welchem das Eisen in der oben erwähnten eigentümlichen Weise (= Ferratin) an eine organische Substanz gebunden ist.“ Gelegentlich einer Besprechung der „Methoden der mikrochemischen Untersuchung der Organe auf Eisen“ macht Zaleski¹⁾ darauf aufmerksam, daß „Ammoniak mehrere organische Eisenverbindungen auflöst, dieselbe Eigenschaft aber auch mehrere neutrale Salze wie Ferrocyankalium besitzen.“

Über die Einwirkung einer Vorbehandlung der Gewebe mit Alkohol auf den Ausfall der Eisenreaktion liegen unter anderen Angaben von Hall, Abderhalden, Tartakowsky und Zaleski vor.

Beim mikrochemischen Nachweis des Eisens kann eine Vorbehandlung der Gewebe mit Alkohol nach Hall²⁾ zu Täuschungen führen. Nach der Härtung in Alkohol fand Hall in Milz und Leber mit NH_4SH wenig oder gar kein Eisen, während dieselben Organe, wenn sie frisch mit NH_4SH behandelt wurden, starke Eisenreaktionen zeigten. Hall meint, daß durch die Alkoholbehandlung Eisen extrahiert werden könne. Da aber eine Behandlung frischer Gewebe mit Schwefelammonium eine mazerierende Wirkung befürchten läßt, welche eine nachherige Härtung unmöglich machen könnte, so verwendete Hall alkoholische Lösungen von Schwefelammonium. Nachdem die Gewebe in diesen 24 Stunden verweilt hatten, wurden sie successive in 70—80—90—95proz. und absolutem Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und geschnitten, die Schnitte endlich von Paraffin befreit. Bei dieser Behandlung wird das Schwefeleisen mehr oder weniger zu $\text{Fe}(\text{OH})_2$ oxydiert. Die Schnitte wurden daher „entweder zum zweiten Mal mit der (NH_4SH) -Lösung behandelt oder in eine Mischung von 1,5proz. Ferrocyankalium und 0,5proz. Salzsäure während 20 Minuten eingelegt. Danach wurden sie abgespült, mit Alkohol und Xylol behandelt und in Xylolbalsam eingeschlossen“.

Tartakowsky³⁾ billigt das von Hall empfohlene Verfahren nicht. Er meint, daß bei dieser Art der Fixierung „nur ein geringfügiger Teil des bei den Eisentieren im Duodenalepithel befindlichen Eisens zu behalten gelingt“. Des weiteren führt Tartakowsky aus, wie eine sorgfältige Prüfung der Arbeiten verschiedener Autoren „eine erhebliche Abschwächung und in manchen Fällen sogar ein gänzlich Verschwinden“ der Eisenreaktion in den Geweben infolge von Fixation erkennen lasse. „Die Ursache dieser Abschwächung, ja des Verschwindens der Reaktion muß darin erblickt werden, daß

¹⁾ Zaleski, Zur Pathologie der Zuckerharnruhr und zur Eisenfrage. (Virchow's Archiv, Bd. 104, 1886, p. 95.)

²⁾ Hall, Über das Verhalten des Eisens im tierischen Organismus. (Archiv für Anatomie u. Physiologie, Physiologische Abtlg., Jahrg. 1896.)

³⁾ Tartakowsky, Die Resorptionswege des Eisens beim Kaninchen. Eine mikrochemische Studie. (Pflüger's Archiv, Bd. 100, 1903.)

unsere fixierenden Flüssigkeiten das Eisen aus den Geweben entweder ganz ausziehen oder aber so verändern, daß sein Vorhandensein in den Geweben mittels gewöhnlicher Reagenzien nicht mehr nachgewiesen zu werden vermag.“

Um das Eisen der Gewebe vor der Fixierung in einen Zustand zu bringen, welcher eine Extraktion des Eisens durch die Fixierungsflüssigkeit verhindert, und welcher den mikrochemischen Nachweis gestattet, verfuhr Tartakowsky wie folgt:

„Kleine Organstücke werden für 24 Stunden in die Hall'sche Flüssigkeit (35 ccm 70proz. Spiritus werden mit 5 ccm Schwefelammon versetzt) und darauf für 24 Stunden in konzentrierte Spirituslösung unter Beimischung einiger Tropfen Schwefelammon gelegt. Darauf werden die Organstücke aus dem Spiritus genommen, leicht in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann für 15–30 Minuten in 1½proz. Ferrocyankaliumlösung gelegt. Aus dieser Lösung werden die Organe für 5–10 Minuten in 0,45proz. Salzsäure gebracht.“ Nun kann man nach Tartakowsky die Organe einer beliebigen Behandlung unterwerfen ohne eine Abschwächung der Eisenreaktion befürchten zu müssen. Nach mehrstündigem Liegen in destilliertem Wasser gelangen die Organe in Alkohol (dessen Konzentration nach und nach gesteigert wird), um schließlich in üblicher Weise in Paraffin eingebettet und geschnitten zu werden. Aus den Schnitten werden endlich Balsampräparate hergestellt.

Wie Hall fand auch Abderhalden¹⁾, daß vorherige Fixation mit Alkohol die Eisenreaktion oft in hohem Maße beeinträchtigt. Diesen Angaben gegenüber verdient indessen der Umstand Erwähnung, daß es Zaleski²⁾ „bei der sorgfältigsten Analyse des zur Leberhärtung verwandten Alkohols nie gelungen ist, im selben die leisesten Eisenspuren zu entdecken.“

Von Wichtigkeit für die Beurteilung der Frage, ob das Eisen durch Schwefelammonium in den Präparaten an demselben Orte sichtbar gemacht wird, an welchem sich in der lebenden Zelle entsprechende Eisenverbindungen vorfinden, sind einige Mitteilungen, welche sich auf die Löslichkeit des Schwefeleisens unter gewissen Bedingungen beziehen.

Schon H. Rose³⁾ berichtete: „Setzt man zu zuckerhaltigen alkalischen Lösungen von Eisenoxyd geschwefelwasserstofftes Ammoniak, so entsteht kein Niederschlag, sondern nur eine klare, dunkelgrüne

¹⁾ Abderhalden, Die Resorption des Eisens, sein Verhalten im Organismus und seine Ausscheidung. (Zeitschr. für Biologie von Kühne und Voit, 1900.)

²⁾ Zaleski, Studien über die Leber. (Zeitschr. für physiol. Chemie, X, 1886.)

³⁾ Heinrich Rose, Über den Eisengehalt im Blute und über den Einfluß organischer Substanzen auf die Ausscheidung des Eisenoxyds. (Poggendorff's Annalen, Bd. 7, 1826, p. 84.)

Flüssigkeit," und August Mayer¹⁾ führt aus: „*Salia ferri solubilia si solutionibus albuminis tanta copia admiscuntur, ut salis ferri nihil jam supersit, reagentia chemica non amplius hac solita ratione agunt, qua ferrum adesse rite significatur, quum salia ferri cum substantia organica connubia chemica subierint. Connubium aut liquidum aut praecipitatum, addito kali borussico, caerulei fit coloris, sulphureto ammonii liquido nigri aut viridis, idque, prout plus minusve inest ferri, gradata varietate, nullo ferro borussico aut sulphurato ut alias subsidente. At nihilominus multo demum interjecto temporis spatio f. sulphuratum subsidere cl. Buchheim comperit.*“ „*Solutio albuminis quum, non multo addito ferro sulphurico oxydato, seponeretur, septuaginta duabus post horis, quam cyanuretum ferrosokalicum admixtum fuit, color quidam austerus, incertus apparuit; at vero sulphureto ammonii liquido et ammonio caustico adhibitis actio prorsus eadem adfuit, ac supra commemoravi.*“

Nach Koninck²⁾ geben Ferro- wie Ferrisalze mit Alkalisulfiden einen schwarzen Niederschlag von FeS, wobei die überstehende Flüssigkeit eine Grünfärbung, in sehr verdünnten Lösungen zunächst eine blaue Färbung annimmt. Bestimmte Beobachtungen würden „für die Deutung der Erscheinung durch Annahme des kolloidalen Zustandes des FeS sprechen“.

Im Anschluß an die Mitteilung Koninck's berichten Konschegg und Malfatti³⁾, daß, wenn basische Eisenverbindungen, z. B. das Hydroxyd mit Ammonsulfid zerlegt werden sollen, man nicht schwarzes Eisensulfid erhält, sondern eine vollständige Lösung von tiefgrüner Farbe und sehr schwach alkalischer Reaktion. Durch sehr großen Überschuß von gelbem Schwefelammonium oder durch geringen Zusatz von Chlorammonium fällt aus dieser Lösung das Eisensulfid vollständig aus. Auch das auf gewöhnliche Weise aus Eisenchlorid und Schwefelammonium erhaltene Eisensulfid ist löslich, wenn man es nach dem Wegwaschen der Ammonsalze mit Wasser mit nicht zuviel Kali- oder Natronlauge aufschlemmt. Die Lösung ist tiefgrün. In Ammoniak löst sich der Sulfidniederschlag nicht, in Schwefelammonlösungen entsteht nur eine leicht grünliche Färbung der Flüssigkeit, die bei Gegenwart von etwas essigsauerm Ammon etwas leichter entsteht und stärker wird. „Wenn also Schwefelammonium die Niederschläge basischer Eisenverbindungen so leicht löst, so ist daran wohl das

¹⁾ Augustus Mayer, De ratione qua ferrum mutetur in corpore. (Dissertatio inauguralis, Dorpat 1850, p. 11.)

²⁾ L. L. de Koninck, Bemerkungen über die Reaktion von Eisensalzen mit Schwefelnatrium. (Bull. de la Soc. chim. de Belgique 19, 181—89, Juli [Apr.] 1905. — Ref. Chem. Centralblatt 1906, Vol. 1, p. 964.)

³⁾ Konschegg und Malfatti, Über das lösliche Eisensulfid. (Zeitschr. für analytische Chemie, 45. Jahrg., 1906, p. 747.)

vom Eisenniederschlag festgehaltene Kali schuld.“ Die Autoren sind der Meinung, „daß die besprochenen grünen Lösungen nicht kolloidales Eisensulfid, sondern einen Körper etwa von der Zusammensetzung eines sulfoeisensauren Alkalis enthalten“.

Dafür, daß gelöste Sulfide bei der Eisenreaktion mit Schwefelammonium in den Geweben eine Rolle spielen können, spricht die mehrfach wiederkehrende Angabe von einer diffusen Grünfärbung der Gewebe. So betont Quincke¹⁾, daß Eisen aus wässriger Lösung durch Schwefelammonium als feinkörniges FeS gefällt werde, das im Zellprotoplasma gleichmäßig verteilte Eisen werde aber nicht feinkörnig gefällt, sondern verleihe dem Zellkörper im mikroskopischen Bilde eine gleichmäßige mehr oder weniger intensive Grünfärbung. Bei Gelegenheit seiner Untersuchungen „zur Pathologie des Blutes“²⁾ konnte Quincke sogar in Schwefelammoniumpräparaten nach wochenlangem Liegen eine Diffusion der Färbung „in die Umgebung der eisenhaltigen Körner“ beobachten.

In den Muskeln verschiedener Tiere sah Abderhalden³⁾ nach längerer Einwirkung des Reagens (Schwefelammonium + Ammoniak) eine Grünfärbung auftreten. „Eine histologische Lokalisation der Reaktion war unmöglich. Unter dem Mikroskop und der Lupe ließ sich nur eine diffuse Grünfärbung erkennen.“

Erscheint nach den vorstehenden Ausführungen die Möglichkeit einer Feststellung der Verteilung von Eisenverbindungen in der lebenden Zelle durch die angewandten Methoden nicht gesichert, so ist es auch fraglich, inwieweit diese Methoden zu sicheren Schlüssen hinsichtlich der Bindung des Eisens in der Zelle führen können. Das Ausbleiben oder langsame Eintreten der Eisenreaktion mit Schwefelammonium ist, wie bereits ausgeführt wurde⁴⁾, z. B. noch keineswegs beweisend für das Vorhandensein von Verbindungen mit fester gebundenem Eisen oder für das Fehlen von Eisensalzen; auch deren Fällung kann unter Umständen, welche in den Geweben vorhanden sein können, verlangsamt oder verhindert werden. Es mag von Interesse sein, hier die einschlägigen Angaben von Heinrich Rose⁵⁾ in extenso zu citieren:

„Serum von Ochsen-, Menschen- und Hammelblut, sowie die filtrierte Auflösung des Eiweiß vom Ei können mit einer sehr be-

¹⁾ Quincke, Über direkte Eisenreaktion in tierischen Geweben. (Archiv für experimentelle Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 37, 1896, p. 183.)

²⁾ Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 27, 1880, p. 215.

³⁾ Abderhalden, Die Resorption des Eisens. (Zeitschr. für Biologie von Kühne und Voit, 1900, p. 130.) Vgl. auch Tartakowsky (l. c. Pflüger's Archiv, Bd. 100).

⁴⁾ Vgl. p. 128.

⁵⁾ Heinrich Rose, l. c. Poggendorff's Annalen, Bd. 7, 1826, p. 84.

deutenden Menge einer Eisenoxydlösung vermischt werden, ohne daß der Eisengehalt in ihnen durch die gewöhnlichen Reagenzien entdeckt werden kann. Ammoniak und andere Alkalien bringen, auch in der größten Quantität hinzugefügt, keinen Niederschlag von Eisenoxyd hervor, wenn nicht die Menge des hinzugefügten Oxyds zu groß ist, ja sogar verschwindet beim Zusatz von Alkalien der Niederschlag gänzlich, der entsteht, wenn eine Auflösung von Eiweiß zu kleinen Mengen einer neutralen Eisenoxydauflösung gemischt wird. Wird geschwefelwasserstofftes Ammoniak zu einer ammoniakalischen Auflösung von Eiweiß oder Serum, zu welcher eine große Menge von Eisenoxydauflösung gesetzt worden war, getropft, so entsteht kein schwarzer Niederschlag, die Flüssigkeit wird erst nach langer Zeit, ungeachtet des bedeutenden Eisengehaltes, schwach grünlich gefärbt, aber wenn sie auch noch so lange in verschlossenen Gefäßen aufbewahrt wird, so setzt sie keinen Niederschlag von Schwefeleisen ab.“

„Die Eigenschaft, die Fällung des Eisenoxyds durch Alkalien zu verhindern, habe ich außer bei den angeführten Substanzen, noch bei folgenden gefunden: Bei der Auflösung der tierischen Gallerte, des Stärkemehls im kochenden Wasser, des arabischen Gummis, des Leinsamengummis, sämtlich so verdünnt, daß sie filtriert werden konnten, bei der Auflösung des Rohrzuckers, des Stärkemehlzuckers, des Harnzuckers, des Milchezuckers, des Glyzerins, des Mannazuckers, der pektischen Säure, der Chinasäure, der Schleimsäure, der Äpfelsäure, der Zitronensäure und der Weinsteinsäure.“

Später hat u. a. Quincke im Hinblick auf den Eisennachweis in tierischen Geweben (l. c. 1896) daran erinnert, daß Eisen aus wässriger Lösung zwar durch Schwefelammonium als feinkörniges Schwefeleisen gefällt werde, die Gegenwart eines Eiweißkörpers in der Lösung aber diese Ausfällung verlangsamt.

Marfori¹⁾ macht darauf aufmerksam, daß gewisse Eisenverbindungen, welche mit verdünntem Schwefelammonium langsam reagieren, mit dem konzentrierteren Reagens sofort reagieren.²⁾ Abgesehen von der Konzentration des Schwefelammons ist nach Marfori auch die Temperatur von großem Einfluß auf die Reaktion. Man kann z. B. das Eintreten der Eisenreaktion von Ferratinlösungen mit verdünntem Schwefelammon „ritardare indefinamente“, wenn man für eine Temperatur von etwa 2° C Sorge trägt. Unter denselben Bedingungen reagieren aber Lösungen der „composti anorganici (lattato di ferro)“ sofort.

¹⁾ Marfori, Die una nuova reazione per distinguere i composti organici di ferro dagli anorganici con speciale riguardo alla ferratina. (Annali di Farmacoterapia e Chimica, Milano 1898, p. 433.)

²⁾ Das wird auch schon von Quincke angegeben. (Zur Pathologie des Blutes, Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 27, 1880, p. 214.)

Wiederholt hat Macallum¹⁾ die Methode des Eisennachweises in bestimmten Teilen der Zelle durch Schwefelammonium verteidigt.

Macallum untersuchte zunächst vergleichend die Einwirkung von „Ammoniumsulfid“ = „Diammoniumsulfid“ $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, „Ammoniumhydrogensulfid“ (NH_4HS) und von Ammoniumpolysulfiden auf die Eisenreaktion. Dabei fand er, daß letztere auf maskiertes Eisen nicht einwirken und daß ferner die Einwirkung des Ammoniumhydrogensulfides energischer ausfällt, als diejenige des Diammoniumsulfides. (Macallum verwendete bei seinen mikrochemischen Untersuchungen verdünnte Lösungen von Ammoniumhydrogensulfid [1895, p. 181].) Geprüft wurde die Einwirkung auf Kaliumferrocyanid und auf Zellen aus dem Ovarium von *Erythronium americanum* bei 30 bis 50° C. Bei Erythronium wurde mit dem Hydrogensulfid schon nach 24 Stunden eine deutliche Wirkung erzielt. In tierischen Zellpräparaten trat das Maximum der Reaktion in etwa 10 Tagen ein.

Als Verbindungen mit „maskiertem“ Eisen bezeichnet Macallum solche Verbindungen, in welchen das Eisen fester gebunden ist, in welchen es sich z. B. mit Schwefelammon nicht ohne weiteres nachweisen läßt. Hierher gehören Ferrocyanid, Ferricyanid, Hämoglobin, Hämatin. Eisensalze hingegen sind Verbindungen mit nicht maskiertem Eisen.

Gegen eine Verunreinigung seiner Präparate durch von außen zugeführtes Eisen suchte sich Macallum durch sorgfältige Prüfung der Reagenzien, Reinigung der Instrumente, Gefäße usw. zu schützen. Es war aber (sagt Macallum 1895, p. 190) „of course impossible to provide against the iron in the glass“. Später (1908, p. 588) benutzte Macallum Objektträger und Deckgläser aus Quarz.

Daß von außen kein Eisen in seine Präparate gelangt sei, suchte Macallum (1895, p. 195) für bestimmte Fälle folgendermaßen nachzuweisen: Durch Bunge's Lösung konnte alles durch Ammoniumhydrogensulfid nachweisbare Eisen aus Erythroniumschnitten (Ova-

¹⁾ Macallum, On the Distribution of assimilated iron compounds, other than Haemoglobin and Haematin in animal and vegetable cells. (Quart. Journ. Micr. Sci., Vol. 38, N. S., 1895.) Macallum, On the Cytology of non-nucleated organisms. (Transactions of the Canadian Institute 1898—99.) Macallum, A new method of distinguishing between organic and inorganic compounds of iron. (The journal of physiology, London, Vol. XXII, 1897—1898, p. 92.) Vgl. hierzu: Paul Meyer, Über das Färben mit Hämatoxylin. (Mitteilungen aus der zoologischen Station zu Neapel, Bd. 10, 1891—93.) Macallum, Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, Jahrg. 1908, p. 587.) Macallum's Methoden sind u. a. benutzt worden von Scott (On the structure, microchemistry and development of nerve-cells, with special reference to their nucleincompounds. Transactions of the Canadian institute, Vol. VI, 1899, p. 405). Nasmith (The chemistry of wheat gluten, Transact. of the Canadian institute, Vol. VII, 1904, p. 497).

rium) extrahiert werden. Sie gaben keine Eisenreaktion, auch wenn sie nach der Behandlung mit Bunge's Lösung noch mit Schwefelsäurealkohol behandelt worden waren. Wohl aber erhielt man Eisenreaktion, wenn nur mit Schwefelsäurealkohol behandelt worden war. Ebenso erhielt man Eisenreaktion und zwar fast nur in den Kernen, wenn nach der Extraktion mit Bunge's Lösung die Schnitte auf $\frac{1}{2}$ Stunde in eine Lösung gelangten, welche folgendermaßen bereitet worden war: „A quantity of sulphuric acid alcohol was allowed to act on ferric oxide in powder for about a week, when a portion passed into solution as a ferric salt. Of this solution 1 cc. was taken and added to 10 cc. of pure sulphuric acid alcohol.“

Die Angaben von Hall und Abderhalden über die Einwirkung des Alkohols auf die Verteilung des Eisens in den Geweben bestreitet Macallum (1908, p. 576), ohne jedoch seine abweichenden Behauptungen hinreichend zu stützen. Ebenso wenig begründet er hinreichend seine Behauptung, daß die Verteilung des Eisens in der Zelle durch Behandlung von Schnitten oder Gewebemassen mit Schwefelsäure- oder namentlich Salpetersäurealkohol nicht verändert werde. Das Eisen soll durch diese Alkohole aus organischer Bindung freigemacht werden, dann aber an seinem ursprünglichen Sitze, z. B. in den Chromosomen, verbleiben (1895, p. 191). Es ist indessen nicht einzusehen, weshalb das nach der Säurebehandlung in den Chromosomen nachweisbare Eisen denselben auch vor der Säurebehandlung angehört haben muß. Eingehender geprüft werden die Fragen, welche sich aus der unter bestimmten Bedingungen konstatierten Löslichkeit des Schwefeleisens ergeben.

Den Mitteilungen von Koninck, Konschegg und Malfatti gegenüber bemerkt Macallum (1908, p. 588), es könne angenommen werden, daß bei seiner Methode des Eisennachweises in der Zelle lösliche Sulfide unter Einwirkung von Natrium und Kaliumhydrat gebildet würden, „welche durch die Zersetzung an den Glasoberflächen in Berührung mit dem Glyzerinpräparat erzeugt werden“. Man könne dann ferner annehmen, die gelösten Sulfide würden vom Kern aufgenommen und so eine dunkelgrüne Färbung des letzteren bewirkt. Macallum erklärt jedoch, daß dergleichen bei seiner Methode tatsächlich nicht vorkomme. Da seine Reaktionen, wenn sie unter Verwendung von Objektträgern und Deckgläsern aus Quarz ausgeführt werden, ebenso verlaufen, wie bei der Verwendung von Glas, bei der Behandlung auf Quarz aber eine Lösung der Sulfide durch Kali oder Natron nicht in Frage komme. Dabei übersieht indessen Macallum, daß Konschegg und Malfatti angeben, in Schwefelammoniumlösungen sei der Sulfidniederschlag aus Eisenchlorid nicht ganz unlöslich. Aus sehr verdünnten Lösungen vermag aber bekanntlich das Chromatin manche Substanzen aufzuspeichern. Nun

sagen allerdings Kanschegg und Malfatti, daß aus alkalischen Eisensulfidlösungen (aus basischen Eisenverbindungen hergestellt) das Sulfid durch einen geringen Zusatz von Chlorammonium vollständig wieder ausfalle, und Macallum fand, daß ein solcher Zusatz zu seinen Glyzerinsulfidpräparaten die allmähliche Bildung von „dunkelgrünem Ferrosulfid im Chromatin“ nicht verhinderte. „Deshalb könne das auf diese Weise entdeckte Eisen nicht in der Lösung gewesen und nach der Zersetzung der ursprünglichen maskierten Verbindung wieder verteilt gewesen sein.“ Für ganz einwandfrei vermag ich diese Überlegung nicht zu halten, denn wenn das nach und nach aus organischer Bindung befreite Eisen als Sulfid vom Schwefelammonium gelöst werden kann, so muß es noch fraglich bleiben, inwieweit es dann am selben Orte in der Zelle niedergeschlagen wird, an welchem sich das Eisen in der lebenden Zelle befand. Die makrochemische Bearbeitung der ganzen Frage scheint mir hier noch nicht so weit gediehen zu sein, daß für ein mikrochemisches Vorgehen hinreichend sichere Grundlagen geboten werden. Namentlich scheint mir, da doch das aus Eisenchlorid stammende kalifreie Eisensulfid in Schwefelammonium nicht ganz unlöslich ist, auch die vollständige Ausfällbarkeit des aus basischen Eisenverbindungen erhaltenen Sulfids durch Chlorammonium, insbesondere bei Anwesenheit von Proteinstoffen, einer weiteren Prüfung bedürftig.¹⁾

Es ist nicht sicher, daß der von den Autoren aus Eisenchlorid erhaltene Niederschlag frei von Chlorammonium war. Es wird zu prüfen sein, inwieweit Chlorammoniumzusätze verschiedener Menge wirklich die Ausfällung auch der letzten Spuren von Schwefeleisen herbeiführen, insbesondere bei Gegenwart von Eiweißkörpern (vgl. a. a. O.).

Der gegenwärtige Stand der Kenntnisse läßt es unter Berücksichtigung der Angaben Gilson's (p. 130) nicht ausgeschlossen erscheinen, daß bei Anwendung der Schwefelammoniummethode Macallum's Eisen aus anderen Teilen der Zelle in das Chromatin des Kernes gelangen kann: zunächst bei der Abtötung und Härtung der Gewebe in Alkohol, dann während der Einwirkung des Schwefelammonium. Zu berücksichtigen ist hier auch, daß Ammoniak, worauf Zaleski bei der Besprechung mikrochemischer Eisenreaktionen hinweist, „mehrere organische Eisenverbindungen auflöst“.²⁾

Gilson gegenüber gibt auch Macallum (1908 p. 586) zu, daß tote Kerne Eisensalze absorbieren könnten (vgl. p. 141), und daß ferner Chromatin eine feste Bindung mit dem absorbierten Eisen eingehen, und eine „maskierte“ Verbindung mit diesem bilden könne,

¹⁾ Vgl. Mouneyrat, Méthode de recherche et de dosage de petites quantités de fer. (Compt. Rend. des Séances de l'Acad. des Sciences Paris, 1906, T. 142 p. 1049.)

²⁾ Zaleski, Virchow's Archiv, l. c. 104, 1886, p. 95.

während der Kern sich im lebenden oder im Übergange vom lebenden zum toten Zustande befinde. Macallum glaubt jedoch sich über diese Möglichkeiten mit den Worten hinwegsetzen zu können: „Die Frage, ob sterbender Kernstoff Eisen aus Eisensalzen, welche er absorbiert hat, maskieren kann, ist jedoch nur eine theoretische“. Macallum's weitere Ausführungen sind unklar, indessen scheint er (p. 587) sagen zu wollen, daß in bestimmten, von ihm untersuchten Geweben kein nicht maskiertes Eisen vorhanden gewesen sein könne, weil diese Gewebe im frischen Zustande binnen einer halben Stunde keine Reaktion mit Schwefelammon geben, wohl aber dann in den Kernen nach dem Auswaschen, Härten in Alkohol und darauf folgender Behandlung mit einer „Glyzerin- und frischen Sulfidmischung“. Macallum hat bei seinen Überlegungen wie auch a. a. O. nicht berücksichtigt, daß die Gegenwart von Eiweißkörpern die Ausfällung des Eisens zu behindern vermag.

Großen Wert legt Macallum mit Recht auf die Erreichung einer mikrochemischen Unterscheidung zwischen „maskiertem“ und nicht „maskiertem“ Eisen in der Zelle. Daß diese sich aber mit einiger Sicherheit nicht, wie Macallum u. a. angenommen haben, dadurch erreichen läßt, daß man beobachtet, ob Schwefeleisenniederschläge sich sofort oder erst nach einiger Zeit bilden, ergibt sich schon aus dem Vorstehenden. Macallum's Angaben sind schwankend. Im Jahre 1895 betont er, daß, wenn in der Kälte bei der Einwirkung von Ammoniumhydrogensulfid sofort die Eisenreaktion auftritt, Eisen in Form von Albuminaten oder anorganischen Verbindungen vorliege. Es sei aber maskiertes Eisen vorhanden, wenn die Reaktion sehr langsam und nur in der Wärme eintritt. Von dieser Regel zählt aber Macallum eine Anzahl von Ausnahmen auf, nämlich Hämoglobin, Hämatin, Dotter vom Hühnerei. Im frischen Dotter tritt die Reaktion sofort ein, ist er aber durch Alkohol oder Hitze gehärtet, erst nach mehrtägiger Behandlung bei 50—60° C. Bei Amphibien geben die Dotterkörper, gleichgültig ob frisch oder gehärtet, die Eisenreaktion sofort. Bei Hämoglobin und Myohämatin tritt überhaupt keine Reaktion ein. Ammoniumhydrogensulfid jedoch „readily liberates the iron of haematin, and from a solution of haematin in ammoniated alcohol or in dilute ammonia, into which hydrogensulphide has been passed, part of the iron at ordinary temperatures, but the whole at 50° C., is precipitated as ferrous sulphide, in a few days.“

Aus dem Vorhandensein der aufgeführten „Ausnahmen“ ergibt sich, daß keineswegs alles von Macallum als „maskiert“ bezeichnete Eisen langsam reagiert, denn die Dotterkörper z. B. rechnet er (p. 186)

ausdrücklich zu den „organic combinations in which the iron is masked“. Man kann also aus dem sofortigen Eintreten der Reaktion nicht allgemein auf ein Vorhandensein von anorganischen Eisenverbindungen und Albuminaten schließen; ebensowenig (wie sich aus früheren Darlegungen ergibt) aus langsamem Eintreten der Reaktion auf ein Vorhandensein von organischen Verbindungen mit maskiertem Eisen. Übrigens folgt weiter aus dem Gesagten, daß sich der Begriff der „Verbindungen mit maskiertem Eisen“ überhaupt nicht in der von Macallum gewollten Weise aufrecht erhalten läßt. Es gibt eben einerseits anorganische Eisenverbindungen und andererseits organische mit Eisen in sehr verschiedener Abstufung der Bindung.

Macallum selbst bemerkt unter Bezugnahme auf Angaben Schneider's (1908, p. 574) „das Eisen wird nicht gleichmäßig in allen maskierten Verbindungen festgehalten. In manchen wird es leicht durch gewöhnliche Reagenzien für Eisen freigemacht. Das Eisen des von Bunge aus dem Gelb des Hühnereies isolierten Hämatogens reagiert in wenigen Minuten auf verdünntes Ammoniumsulfid.“ p. 566 wird allerdings ausgeführt: „das Hämatogen Bunge's gibt in wässriger Ammoniaklösung bei Hinzufügung eines Tropfens Ammoniumsulfid nur eine schwache Reaktion, nach einer halben Stunde und im Verlauf mehrerer Stunden eine deutliche Reaktion; wenn aber das Sulfidreagens sofort in beträchtlichen Mengen beige-fügt wurde, wurde die Reaktion schneller und ausgesprochener erreicht.“ Die Beurteilung der mit Schwefelammonium erzielten Resultate wird zum Teil dadurch beeinträchtigt, daß genaue Angaben über die Konzentration des Reagens und die Temperaturen, bei welchen experimentiert wurde, fehlen (vgl. p. 139).

Mehrfach ist die Frage geprüft worden, ob es etwa möglich sei durch Extraktion mit Säuren eine Trennung der verschiedenen in den Geweben vorkommenden Eisenverbindungen zu erreichen.

Salzsäurealkohol nach Bunge entfernt nach Macallum (1895, p. 185) aus Schnitten bei 55° C in etwa einer Stunde die Eisenverbindungen, welche sofort in der Kälte mit Schwefelammonium die Eisenreaktion geben. Werden Schnitte bei erhöhter Temperatur 2 bis 3 Tage mit Bunge's Flüssigkeit behandelt, so wird denselben alles Eisen entzogen, werden aber ganze Gewebsmassen behandelt, so findet die Extraktion des Eisens nur sehr langsam statt. Es können bis zu 2 Monaten erforderlich sein (p. 193).¹⁾

Bei Erythronium fand Macallum, daß nach zweiwöchentlicher Behandlung von Gewebsmassen mit Bunge's Flüssigkeit bei 20° C die Eisenreaktion sofort eintrat, und zwar begrenzt auf die Kerne,

¹⁾ Nach Gilson (l. c.) genügt Bunge's Lösung (selbst nach 6 tägiger Einwirkung) nicht, um das künstlich mit totem Nuklein kombinierte Eisen zu entfernen. Nähere Angaben über das eingeschlagene Verfahren fehlen.

während ohne vorherige Anwendung von Bunge's Lösung die Eisenreaktion hier erst nach längerer Zeit erfolgte. Macallum ist der Meinung, daß Bunge's Lösung das maskierte Eisen frei mache (p. 189).

Nach Bunge wird das maskierte Eisen des Eidotters nicht durch Salzsäurealkohol extrahiert. Hierzu bemerkt Macallum, daß in hart gekochtem Dotter nach eintägiger Behandlung mit Bunge's Flüssigkeit bei 30—35° C sofort die Eisenreaktion mit Schwefelammonium eintritt, während das nicht der Fall ist, wenn die Vorbehandlung mit Bunge's Lösung unterbleibt. Das maskierte Eisen wird durch den Salzsäurealkohol freigemacht, aber nicht sofort extrahiert. Wird indessen eine sehr kleine Dottermenge mit sehr viel Salzsäurealkohol einige Tage lang behandelt, so wird alles Eisen entfernt.

Das anorganische und Albuminateisen meint Macallum durch geeignete Behandlung von Schnitten mit Bunge's Flüssigkeit entfernen zu können, ohne daß gleichzeitig das sonstige, an organische Komplexe gebundene Eisen entfernt wird. Er bringt die Schnitte auf 1—2 Stunden bei 50—60° C oder auf 8—10 Stunden bei 35° C in Bunge's Lösung. Prüfung mit Schwefelammonium soll zeigen, ob alles anorganische und Albuminateisen entfernt worden ist.

Demgegenüber ist zu sagen, daß durch Behandlung mit Bunge's Lösung eine exakte Abtrennung des anorganischen und Albuminateisens vom „organischen“ in der angegebenen Weise nicht möglich ist. Es wird das für bestimmte Fälle (Protozoen) auch von Macallum (p. 237) selbst zugegeben. Hat man so lange extrahiert, bis bei der Prüfung mit Schwefelammon keine sofortige Reaktion eintritt, so kann (vgl. die vorstehenden Ausführungen) auch das „organische“ Eisen zum Teil oder vollständig extrahiert worden sein.

Außer der Einwirkung von Salzsäurealkohol untersuchte Macallum (1895, p. 190) auch diejenige von Schwefelsäurealkohol (4 Vol. „strong acid“ + 100 Vol. Alkohol 95proz.) und Salpetersäurealkohol (3 Vol. Säure 1,4 sp. Gew. + 100 Alkohol 95proz.). „Sulphuric acid alcohol (sagt Macallum p. 193) acts more slowly (als Bunge's Lösung) and consequently requires a longer time for liberating the iron in unsectioned objects, while in sections its action is complete in from one to four days, this depending also on the temperature, the most favourable being 35° C. A longer stay than is sufficient to liberate all the organic iron results in removing from the sections some of the iron set free, the more being extracted the longer the sections lie in the reagent.“

Über den Salpetersäurealkohol bemerkt Macallum (1895, p. 191); „When sections of vegetable tissues are allowed to lie for two weeks in a large quantity of the reagent, the nuclei at the end of that time give as intense a reaction for iron as they do at the end of two days.“ 1908, p. 590 heißt es dann übrigens: „Viel weniger

wirksam sind Salpeter- und Salzsäure, wenn sie mit Alkohol verwandt werden. Salpetersaurer Alkohol (100 Teile reiner Alkohol, 1,4 sp. Gew., 3 Teile Salpetersäure) ist ein mächtiges Reagens, um das Eisen im Kernchromatin frei zu machen, aber er extrahiert es, wenn es ganz frei gemacht worden ist, fast eben so schnell, und als Resultat hiervon können die Schnitte der (in Alkohol gehärteten) tierischen und pflanzlichen Organe nach mehrtägiger Behandlung mit dem warmen Reagens keinerlei Kerneisen enthalten.“

Nach alledem ist eine Trennung der verschiedenen in den Geweben vorkommenden Eisenverbindungen durch Extraktion mit Säuren auf den eingeschlagenen Wegen nicht erreicht worden.

Sicherer als durch Schwefelammonium gelingt nach Macallum (Journal of Physiol. l. c.) die Unterscheidung von „maskiertem“ und „nicht maskiertem“ Eisen durch Hämatoxylin. Dasselbe muß durchaus rein in 5proz. Lösung in absolut reinem destillierten Wasser verwendet werden, dann färbt sich die bräunlich-gelbe Lösung mit Lösungen von Eisensalzen blauschwarz. „Maskiertes“ Eisen verändert die Färbung der Hämatoxylinlösung nicht. Aber auch diese Unterscheidungsmethode ist nicht überall anwendbar, denn „jede starke Säure, selbst Essigsäure, entfärbt die durch Hämatoxylin aus Eisen- oder Kupfersalzen gebildete blaue Verbindung oder verhindert, daß sie gebildet wird“ (1908, p. 567). Daraus erheben sich gewichtige Bedenken gegen die Anwendung der Methode auf Gewebe mit sauren Zellsäften. Eingehend hat sich Marfori¹⁾ mit der Hämatoxylinfärbung für bestimmte Fälle beschäftigt.

Nach Macallum²⁾ bleibt beim Zusatz von Hämatoxylin zum Eidotter die Färbung so gut wie unverändert. Ferratin aus Ochsenleber verändert die Hämatoxylinfärbung nicht, wohl aber wird nach Macallum die Färbung der Hämatoxylinlösung durch künstliches Ferratin verändert, und zwar in derselben Weise, wie durch Eisensalze.

Da Ferratin in Wasser ohne Zusatz von Alkali nicht löslich ist, hat Macallum die Substanz in Form von Pulvern angewendet. Ferner hat er ammoniakalische Ferratinlösung auf Filtrierpapier gebracht und hier antrocknen lassen. Er hat jedoch nicht angegeben, ob er die Hämatoxylinreaktion bei künstlichem und natürlichem Ferratin sowohl an Pulvern als auch nach der Antrocknung von Lösungen auf Filtrierpapier ausgeführt hat oder ob er die beiden Ferratine in differenter Form verwendete.

¹⁾ Marfori, Di una nuova reazione per distinguere i composti organici di ferro dagli anorganici con speciale riguardo alla ferratina. (Annali di Farmacoterapia e Chimica, Milano 1898.) Vgl. hinsichtlich des Ferratin die Ausführungen weiter oben p. 98, 139.

²⁾ Macallum's Angaben sind hier der Darstellung Marfori's entsprechend wiedergegeben.

Marfori goß tropfenweise Hämatoxylinlösung (0,5proz.) auf Ferratinpulver (verschiedene Handelsmuster) und erhielt Blaufärbung. Natürliche Ferratine ergaben zum Teil dasselbe Resultat, zum Teil war die Reaktion aber „*incerta e quasi negativa*“. Da die Präparate sich aber in ammoniakalischer Lösung gegen Schwefelammonium gleichartig verhielten, dachte Marfori an eine verschiedene Löslichkeit derselben.

Natürliches, in Pulverform nicht reagierendes Ferratin zeigte Blaufärbung, wenn es vor dem Zusatz der Hämatoxylinlösung mit ammoniakalischem Wasser zu einem Brei angerührt und dann getrocknet worden war. Stellt man die Reaktion in letzterer Art mit künstlichem und natürlichem Ferratin einerseits und mit Eisenlactat andererseits an, so erfolgt die Blaufärbung mit dem Eisenlactat sehr viel schneller. Unter denselben Bedingungen tritt auch mit Schwefelammonium die Reaktion bei Eisenlactat viel rascher ein, als bei Ferratinpulvern.

Marfori hat weiter einige vergleichende Versuche mit ammoniakalischen Lösungen angestellt:

- a) Se ad una soluzione ammoniacale di ematogene, di ferratina naturale e di ferratina artificiale (gr. 0,25 in 100 c. c. H_2O) si aggiungono alcune gocce (2.03) di soluzione di ematossilina si ha una bella colorazione rosso-violetta, che è propria delle soluzioni ammoniacali di ematossilina. La colorazione rosso-violetta, che si presenta identica nella soluzione delle tre sostanze indicate, persiste inalterata per ore e per giorni.
- b) Se ad una soluzione ammoniacale di un sale di ferro (tartrato, lattato etc.) si aggiungono alcune gocce di soluzione di ematossilina, si ha una bella colorazione bleu-azzurra persistente.
- c) Se ad una soluzione diluita di ferratina artificiale si aggiungono 4.05. gocce di una soluzione diluita di un sale di Ferro (tartrato di ferro in proporzione di 0,005 in 1 c. c.) si agita bene in modo da ottenere una miscela omogenea e quindi vi si versano alcune gocce della soluzione di ematossilina, si vede apparire la colorazione bleu-azzurra, caratteristica dei sali di ferro. Da queste ricerche deve si concludere che la nuova reazione del Macallum, come venne da me modificata, serve assai bene a distinguere i composti „organici“ dai sali di ferro, e vale anche a svelare la presenza di piccole quantità di questi ultimi nelle soluzioni ammoniacali dei primi.“

Wie die „organischen“ Verbindungen verhält sich nach Marfori aber auch das dialysierte Eisenoxydhydrat gegen Hämatoxylin, es färbt sich nicht, wohl aber reagiert es sofort mit Schwefelammonium.

Macallum (1908, p. 567) schreibt dieses Verhalten des Ferrum oxydatum dialysatum einem Gehalt des Präparates an Salzsäure zu, denn „wenn Salzsäure oder Oxychlorsäure selbst nur in Spuren vorhanden sind, wird die chromogene Eigenschaft auf ein Minimum beschränkt oder vernichtet“.

Macallum bezeichnet (1908 p. 600) als wesentliches Resultat seiner mikrochemischen Untersuchungen bezüglich der Verteilung von Eisenverbindungen in der Zelle, daß solche namentlich im Chromatin zu finden seien. Bedauerlich ist es, und geeignet Verwirrung in die Literatur hineinzutragen, daß Macallum auch Stoffe, welche dem Zellkern nicht angehören, für Chromatin ausgibt (ohne den Nachweis zu erbringen, daß diese Stoffe mit der färbbaren Substanz der Chromosomen identisch sind), nur deshalb, weil sie sich z. B. mit Safranin und Hämatoxylin färben lassen (1895, p. 228, 251 u. a. a. O.). Wenn derartige Stoffe nach Macallum vielfach Eisenreaktion ergeben, so folgt daraus nicht, daß der Eisengehalt eine Eigenschaft ist, welche dem Chromatin besonders zukommt, sondern lediglich, daß Stoffe, welche sich nach gewissen Methoden leicht färben lassen, auch die Eisenreaktion ergeben und daß kann wieder damit zusammenhängen, daß sie nicht nur Farbstoffe, sondern auch Eisen aus ihrer Umgebung aufzuspeichern vermögen.

Hinsichtlich in Teilung begriffener Zellen sagt Macallum (1908 p. 501): „Die Eisenreaktion (mit Schwefelammon) beschränkt sich so scharf auf das Chromatin, daß die mitotischen Chromosome in den sich teilenden Zellen so deutlich abgegrenzt sind, als ob sie mit essigsaurem Methylgrün oder irgendeinem anderen färbenden Reagens, welches nur Chromatin auswählt, gefärbt wären“. Bei Chironomus und ähnlichen Objekten soll die Eisenreaktion nur in den chromatischen Teilen der Chromosomen, nicht im Achromatin auftreten. Diese Angaben stimmen dann aber mit den Abbildungen Macallum's (1895) nicht überein. Hier zeigen auch die achromatischen Teile der Kernteilungsfiguren scharf ausgesprochene Eisenreaktion, desgleichen das Zellplasma. Daß tatsächlich im Kern maskiertes Eisen vorkommt, suchte Macallum (1908, p. 589) dadurch zu beweisen, daß er die Kerne der Eierstockseier von Amphibien isolierte und dann „nachdem er bestimmt die Abwesenheit von irgend einer sofort mit Ammonsulfid auffindbaren Eisenverbindung nachgewiesen hatte, auf einer reinen Platinplatte in einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure erhitzte, bis die Flüssigkeit verdampft war. Wenn er dem Rest etwas saure Ferrocyanidlösung zusetzte, entwickelte sich Berlinerblau.“

Es erscheint mir auf Grund eigener Erfahrungen¹⁾ zweifelhaft, ob es möglich ist, die Kerne so zu isolieren, daß ihnen kein Zellplasma mehr anhängt. Sollte das aber auch in den Versuchen Macallum's erreicht worden sein, so bleibt es nach den früheren Ausführungen ebenso zweifelhaft wie zuvor, welchen Formbestandteilen des Kernes das Eisen angehört. Dasselbe ist von entsprechenden Versuchen zu sagen, welche Macallum mit „den großen, einzigen Chromatinstreifen des Chromatins von dem Kerne (d. h. dem aus chromatischen und achromatischen Teilen bestehenden Kernfaden) einer Speichelzelle der Chironomuslarve“ anstellte. Ob das Eisen hier in den chromatischen oder achromatischen Teilen seinen Sitz hat, bleibt unbekannt. Auch Miescher's²⁾ Angaben über eine eisenhaltige Substanz im Lachssperma gewähren keine weiteren Aufschlüsse. In einem Briefe vom 28. Juli 1893 schreibt Miescher³⁾ über Macallum's mikrochemische Untersuchungen: „Alkoholpräparate von Kernen größerer Struktur werden wochen- und monatelang in der Wärme mit Schwefelammonium behandelt. Macallum behauptet, die Chromatingerüste geben Eisenreaktion. Die Reagenzien wirken so zerstörend, daß ich mir nicht wohl denken kann, wie man über die feinere Lokalisation innerhalb der subtilen Kernbestandteile etwas aussagen will. Wenn durch Zersetzung Eisen frei wird, so kann sich nachträglich irgendein geformtes Element mit dieser Eisenbeize imbibieren, obwohl es vorher eisenfrei war. Immerhin sind diese Befunde Fingerzeige —.“ Das in diesen Worten enthaltene Urteil Miescher's scheint mir auch den neueren einschlägigen Bestrebungen gegenüber Zutreffendes einzuschließen.

¹⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1898, p. 197.)

²⁾ Miescher, Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch, bearbeitet u. herausgeg. von Schmiedeberg. (Die Histochem. u. Physiolog. Arbeiten von F. Miescher, Bd. 2, Leipzig 1897, p. 403 ff.)

³⁾ Die Histochemischen u. Physiologischen Arbeiten von F. Miescher, Bd. 1, 1897, p. 120.

Direkter Nachweis bestimmter Proteinstoffe.

Einleitung.¹⁾

In seinem Manuel de Microscopie stellte Carnoy²⁾ die für mikrochemische Zwecke verwertbaren Eigenschaften der Eiweißkörper zusammen, und sagte, nachdem er die zu damaliger Zeit bekannten Eigenschaften der Nukleine erörtert hatte (p. 88): „C'est peut-être à la nucléine que les noyaux doivent de se colorer par le picrocarmine.“

Ohne die Publikation Carnoy's zu kennen, unternahm ich³⁾ auf Grund der Arbeiten von Miescher, Hoppe-Seyler und Kossel im Jahre 1881 den Versuch, auf mikrochemischem Wege über die Verbreitung und Lokalisation der Nukleine in der Zelle einige Aufschlüsse zu erhalten.

Zunächst wurde die Einwirkung von künstlichem Magensaft auf die roten Blutkörperchen des Frosches beobachtet und festgestellt, daß, abgesehen von der Hauptmasse des Kernes auch ein peripherer Teil des Blutkörperchens, der die Kernreste als zarte Haut umschloß, nicht gelöst wurde. Der Kernrest erhielt ein eigentümlich glänzendes Aussehen. Sodalösung und phosphorsaures Natron ließen den Kernrest sofort verquellen, in konzentrierter Salzsäure verblaßte und verschwand er langsam, immer aber blieb die zarte umschließende Haut erhalten. Dasselbe Verhalten zeigten die Kerne von Vorticellen, Paramäcien und Opalinen. Es wurden weiter die Zellinhalte der Epidermiszellen von *Tradescantia virginica* und des Parenchyms junger Blätter und Stengel von *Ranunculus Lingua* untersucht. Auch hier zeigte sich Übereinstimmung in dem Verhalten der Hauptmasse des Zellkerns gegen eine Reihe von Lösungsmitteln mit von Miescher u. a. gewonnenen Nukleinpräparaten, während sich außerhalb des Kernes Substanzen dieser Art nicht nachweisen ließen. Für *Tradescantia*, *Helleborus* und *Hyacinthus* konnte ermittelt werden, daß während der Teilung des Kernes die gesamte, wie Nuklein reagierende Substanz in die Kernplattenelemente Strasburger's (die Chromosomen) aufgenommen wird. Die Spindelfasern zeigten abweichende Reaktionen.

Die Untersuchungen Miescher's über die Spermatozoen des Rheinlachs veranlaßten mich⁴⁾ zu einer vergleichenden Prüfung der

¹⁾ Vgl. übrigens die Angaben in meiner Arbeit über den Zellkern. (Bot. Ztg. 1882.)

²⁾ Carnoy, Manuel de microscopie. A l'usage des élèves qui fréquentent l'institut micrographique à l'université catholique de Louvain. (Louvain 1880.)

³⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Botan. Ztg. 1881.)

⁴⁾ E. Zacharias, Über die Spermatozoiden. (Botan. Ztg., 1881.)

Spermatozoen von *Nitella*, *Chara*, *Fegatella conica*, *Lunularia vulgaris*, *Marsilia*, *Hemitelia capensis* und *Triton cristatus*. Besonders eingehend wurden die Spermatozoen von Characeen untersucht. Dabei ergab sich: „Das Schraubenband besteht seiner Hauptmasse nach aus einer Substanz, die in Pepsin unlöslich ist, nach der Behandlung mit Pepsin in destilliertem Wasser und konzentrierter Essigsäure nicht quellbar ist, wohl aber in Kochsalzlösung, während sie von konzentrierter Salzsäure und verdünnter Sodalösung gelöst wird, und folglich Reaktionen zeigt, welche den Nukleinen zukommen. Diese aus Nuklein bestehende Hauptmasse des Schraubenbandes wird von einer dünnen Hülle umschlossen, welche weder von Pepsin noch von konzentrierter Salzsäure, verdünnter Soda- oder Kochsalzlösung gelöst werden kann. Aus der nämlichen Substanz besteht zum größten Teil das hintere Bläschen. Die Cilien bestehen ihrer Hauptmasse nach aus einer in Pepsin löslichen, in Kochsalz und konzentrierter Salzsäure unlöslichen Substanz. Ihr in Pepsin unlöslicher Rest zeigt dieselben Reaktionen wie die äußere Umhüllung des Schraubenbandes und der in Pepsin unlösliche Rest des hinteren Bläschens.“

„In allen untersuchten Fällen fanden sich bei den Pflanzen zwischen Cilien und Schraubenband, bei den Tieren zwischen Schwanz und Kopf (als Ergebnis einer Zusammenfassung meiner Untersuchungen mit denjenigen Miescher's) erhebliche Differenzen. Der Kopf der Spermatozoen von Lachs, Frosch, Karpfen und Stier besteht seiner Hauptmasse nach, wie auf makrochemischem Wege nachgewiesen wurde, aus Nuklein. Daß bei den Köpfen von Triton, den Schraubenbändern von *Chara*, *Nitella*, *Fegatella* und *Lunularia* dasselbe der Fall ist, kann aus den mikrochemischen Reaktionen erschlossen werden. Die Schraubenbänder der Spermatozoiden von *Marsilia* und Farnen, welche sich durch hohe Resistenz gegen Lösungsmittel von denjenigen der übrigen pflanzlichen Spermatozoiden unterscheiden, schließen sich in ihrem Verhalten an die Köpfe der Stierspermatozoen an. Man hat es wahrscheinlich dort, wie bei den letzteren mit einer unlöslichen Modifikation des Nukleins zu tun.

Sehr gleichartig verlaufen im allgemeinen die Reaktionen der Cilien und Schwänze. Diese Organe bestehen der Hauptmasse nach aus in Pepsin löslichen, in Kochsalz unlöslichen und unquellbaren Eiweißkörpern. Trotz erheblicher Verschiedenheiten der Formverhältnisse ist also eine weitgehende Übereinstimmung in der chemischen Beschaffenheit der tierischen und pflanzlichen Samenfäden vorhanden. Den Köpfen bei den Tieren entsprechen die Schraubenbänder bei den Pflanzen, den Schwänzen die Cilien.“

„Die in betreff der Entwicklungsgeschichte der Samenfäden, sowie der chemischen Beschaffenheit derselben und der Zellkerne vorliegenden Daten berechtigen zu der Annahme, daß allgemein die Köpfe der

tierischen und die Schraubenbänder der pflanzlichen Samenfäden den Gehalt an Nuklein ihrer Entstehung aus den Kernen der Mutterzellen verdanken, während die Ähnlichkeit im chemischen Verhalten von Cilien und Schwänzen mit ihrer Entstehung aus dem Zellplasma zusammenhängt.“

Nach dem Erscheinen der Untersuchungen Reinke's publizierte ich ¹⁾ im Jahre 1882 eine Arbeit über den Zellkern. Hier habe ich die allgemein nach der Behandlung von Kern und Plasma mit Lösungsmitteln für Eiweißstoffe und Nuklein zurückbleibende Substanz als „Plastin“ bezeichnet, und die Vermutung ausgesprochen, der Körper sei mit dem unlöslichen Nuklein Miescher's identisch, er komme auch im Protoplasma der Eiterzellen vor. („Für sehr wahrscheinlich halte ich es, daß die von Miescher analysierten Kerne nicht rein waren, sondern von den unlöslichen Resten des Protoplasma umhüllt. Das unlösliche Nuklein Miescher's entstammte wohl zum größten Teil diesen Plasmaresten.“)

Als „Nukleine“ habe ich diejenigen Substanzen bezeichnet, welche mit dem löslichen Nuklein Miescher's in ihren Reaktionen übereinstimmen. Weiter heißt es dann l. c. p. 652: „Dabei ist allerdings in Betracht zu ziehen, daß man, wie Miescher (Spermatozoen l. c. p. 19) sehr richtig bemerkt, bei der Aufsuchung des Nukleins in den Geweben die gewöhnlichen histochemischen Reaktionen, Verhalten gegen Lösungsmittel etc. nicht als letzte Instanz wird anrufen dürfen. Die Vergleichung des so resistenten Stiersamens mit dem in Wasser verquellenden Karpfensperma zeigt, daß tiefgreifende Verwandtschaft der chemischen Struktur mit den größten Unterschieden im äußeren Verhalten Hand in Hand gehen kann. Man wird, wo es irgend angeht, sich den Rücken durch Elementaranalyse decken müssen.“

Eine endgültige Entscheidung darüber, ob die auf Grund mikrochemischer Reaktionen von mir als Nuklein und Plastin bezeichneten Substanzen wirklich mit den von Miescher und Reinke untersuchten Stoffen identisch sind, wird demnach makrochemischen Arbeiten vorbehalten bleiben. Aufgabe der mikrochemischen Forschung wird es zunächst sein, zu untersuchen, in welcher Weise die durch ihre Reaktionen zu unterscheidenden Stoffe sich am Aufbau der einzelnen Formbestandteile beteiligen.“ Zur Untersuchung dienten namentlich die Zellen von *Phajus grandifolius*. Es konnte festgestellt werden, daß das Nuklein nicht gleichmäßig im Kern verteilt sei, sich vielmehr nur in bestimmten Teilen des ruhenden Kernes finde, aus welchen bei der Teilung die Kernplattenelemente (Chromosomen) hervorgehen. Wurden Schnitte aus frischen Phajuswurzeln der Verdauung in künstlichem Magensaft unterworfen, so wurden die nukleinhaltigen Teile

¹⁾ E. Zacharias, Über den Zellkern. (Botan. Ztg. 1882.)

des Zellkerns ungemein stark lichtbrechend und scharf konturiert, während Nucleoli und Zwischensubstanz ein etwas gequollenes, blasses Aussehen erhielten, was auch bei den unverdaulichen Teilen des Plasmas eintrat. Verdauliche Eiweißstoffe konnten in allen Teilen der Zelle konstatiert werden. In der Zwischensubstanz des Zellkernes, den Nukleolen, dem Zellplasma fanden sich Substanzen mit den Eigenschaften des Plastin.¹⁾ Später brachte Kossel²⁾ das Vorkommen einer Verkettung von Histon und Nuklein in Zellkernen mit dem von mir mitgeteilten mikrochemischen Befund in Verbindung, auf Grund dessen ich geschlossen hatte, daß verdauliche Substanz in allen Teilen des Kernes vorhanden sei. „Die Richtigkeit dieser Vermutung (sagt Kossel) ist durch die Untersuchung der Kerne von roten Blutkörperchen des Vogelblutes sowie der Spermatozoen des Karpfens mit Sicherheit erwiesen. Hier findet sich das Nuklein in chemischer Vereinigung mit einer Substanz von der Eigenschaft der Albumosen, dem Histon. Dieser Körper wird dem Kern durch Zusatz von Säuren entzogen.“

Eine mikrochemische Reaktion, welche zu einer histologischen Lokalisation der Histone führen soll, hat Saint-Hilaire³⁾ angegeben.

Saint-Hilaire „modifizierte die Biuretreaktion für den mikrochemischen Nachweis, indem er das durch den Eiweißkörper in alkalischer Lösung gebundene Kupfer durch Behandlung mit Ferrocyanalkalium in das rotbraun gefärbte Ferrocyanat überführte. Auf diese Weise können diejenigen Bestandteile der Gewebe, welche die Biuretreaktion geben, durch eine der Karminfärbung ähnliche Tinktion ausgezeichnet werden. An dieser Färbung ist besonders das Histon beteiligt.“⁴⁾ Die Färbung zeigt sich in den Präparaten vorzugsweise an den Zellkern gebunden. „Hier ergeben sich (bemerkt Kossel) Probleme von großer Tragweite, die nur durch Vereinigung chemischer und mikroskopischer Betrachtungen gelöst werden können.“

Die chemische Beschaffenheit des in Alkohol unlöslichen Teiles der Zelle und namentlich der Chromatophoren behandelte meine Arbeit über Eiweiß, Nuklein und Plastin.⁵⁾

¹⁾ Vgl. hierzu auch Carnoy, *La Biologie cellulaire*, Lierre 1884, woselbst sich historische Angaben über den Gegenstand finden.

²⁾ Kossel, *Gewebelehre*, I. c. 1891, p. 55.

³⁾ C. Saint-Hilaire, Über einige mikrochemische Reaktionen. (Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg, Nr. 7, August 1898.)

⁴⁾ Kossel, Über die Eiweißstoffe. (Deutsche medizinische Wochenschrift, 1898, Nr. 37.)

⁵⁾ E. Zacharias, Über Eiweiß, Nuklein und Plastin. (Botan. Ztg., 1883.)

Schon Schimper¹⁾ hatte aus einer Reihe von Reaktionen geschlossen, daß die Stärkebildner aus „eiweißähnlicher Substanz“ bestehen. Für die Leukoplasten in der Epidermis von *Tradescantia*- und Orchisblättern konnte ich bestätigen, daß diese jedenfalls der Hauptmasse nach aus verdaulichen Eiweißstoffen bestehen, außerdem aber Plastin enthalten. Bei den Chlorophyllkörpern hingegen (*Sambucus nigra* wurde vorwiegend untersucht) „sprach die Gesamtheit der Reaktionen dafür, daß der in Alkohol unlösliche Teil im wesentlichen aus Plastin und Eiweiß besteht, daß aber das Eiweiß hier bei weitem nicht in dem Grade vorwiegt, wie in den untersuchten Leukoplasten.“

Die Verteilung der Eiweißstoffe in der Zelle wurde u. a. auf Grund der schon von Hartig²⁾ beschriebenen Reaktion mit Blutlaugensalz und Eisenchlorid studiert. Die Entstehung von Berlinerblau ließ sich in den untersuchten Objekten (Epidermis von *Tradescantia* und Orchisarten) namentlich in den Leukoplasten beobachten, im Zellprotoplasma nahm man an manchen größeren Mikrosomen (*Tradescantia*) desgleichen eine blaue Färbung wahr, übrigens aber erschien es farblos. „Eiweiß“ war hier jedenfalls nicht in derartiger Menge vorhanden, daß es sich durch die Hartig'sche Reaktion nachweisen ließ. Blaufärbung zeigte sich stets in den Kernen, und zwar waren besonders deutlich gefärbt die nukleinhaltigen Teile und die Nukleolen.

Auf die Schwierigkeiten, welche sich bei der Beurteilung eines positiven Ausfalles der Blutlaugensalzreaktion ergeben, habe ich l. c. hingewiesen.³⁾ Auch die nicht erwähnte Möglichkeit des Vorkommens von Eisen in den Organen der Zelle ist in Betracht zu ziehen.

Ein Vergleich des Verhaltens frischer und abfallender gelber Blätter von *Sambucus nigra*, sowie frischer grüner und nach der Blütezeit entnommener Orchisblätter ergab bei der Anwendung des Hartig'schen Verfahrens und der Behandlung mit künstlichem Magensaft: „daß aus den abfallenden Herbstblättern von *Sambucus* hauptsächlich die verdaulichen Eiweißstoffe verschwunden waren, zurückgeblieben war die Hauptmasse des Plastins im Zellprotoplasma und in den Chlorophyllkornresten. Der Zellkern hatte keine nachweisbaren Veränderungen erlitten.“ In den Orchisblättern war sehr leicht das Verschwinden der verdaulichen Eiweißstoffe aus den großen Leukoplasten zu konstatieren. Nur geringfügige Plastinreste blieben zurück. Die

¹⁾ Schimper, Untersuchungen über die Entstehung der Stärkekörner. (Botan. Ztg., 1880.)

²⁾ Hartig, Über das Verfahren bei Behandlung des Zellkerns mit Farbstoffen. (Botan. Ztg., 1854.)

³⁾ Vgl. auch E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft., 1893, p. 304.)

großen, zur Untersuchung besonders geeigneten Zellkerne verhielten sich in den alten Blättern ganz ebenso wie in den frischen grünen.“

Schon früher hatte Kossel¹⁾ auf Grund seiner Untersuchungen an hungernden Tieren ausgesprochen: „Die Vorstellung, daß das Nuklein ein Reservestoff sei, auf dessen Kosten ein hungernder Organismus lebt, muß nach allen Versuchen als unwahrscheinlich zurückgewiesen werden. Die Quantität des Nukleins wechselt wenig, ob der Organismus hungert oder nicht.“ Dem entspricht es, daß die in den Zellkernen der untersuchten Blätter enthaltenen Substanzen jedenfalls ihrer Hauptmasse nach von der Pflanze schließlich nicht weiter verwertet wurden.

Die chemische Beschaffenheit des Nucleolus war Gegenstand einer besonderen Arbeit.²⁾ Die Untersuchung von Nukleolen verschiedener Pflanzen zeigte, daß diese Körper aus verdaulichen Eiweißstoffen und Plastin bestehen, jedoch kein Nuklein enthalten. Die Angabe Carnoy's³⁾, daß die Nukleolen von Spirogyra und der Asci von Pilzen nukleinhaltig seien, konnte nicht bestätigt werden.

In den Pyrenoiden von Spirogyra, welche von Schmitz⁴⁾ in stofflicher Hinsicht den Nukleolen an die Seite gestellt worden waren, konnte mit Sicherheit nicht Plastin, sondern nur verdaulicher Eiweißstoff nachgewiesen werden. Sowohl die Eiweißstoffe der Leukoplasten, als auch diejenigen der Zellkernkrystalloide erwiesen sich in den untersuchten Fällen verschieden von denjenigen der Nukleolen.

Die Angaben Strasburger's und anderer hinsichtlich des Verhaltens der Nukleolen während der Kernteilung wurden zum Teil an lebenden Zellen (Chara) geprüft, und endlich die Veränderungen der Nukleolen in alternden Zellen verfolgt. Unter anderem wurde ermittelt, daß die verästelten, langgezogenen Gebilde, welche in älteren Rhizoiden von Chara aus den Nukleolen hervorgehen, keine anderen Reaktionen zeigen als sie den Nukleolen allgemein zukommen. „Nuklein enthalten diese Gebilde nicht, sie können denjenigen Elementen des Zellkerns, aus welchen sich die chromatischen Elemente der Teilungsfigur bilden, nicht an die Seite gestellt werden, wie das von Johow⁵⁾ geschehen ist.“

¹⁾ Kossel, Zur Chemie des Zellkerns. (Zeitschr. für physiolog. Chemie, Bd. VII, 1882.) E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (S.-A. aus Abhandl. des naturw. Vereins in Hamburg, 1900, p. 32.) Vgl. indessen die abweichenden Angaben von Iwanoff, Über die fermentative Zersetzung der Thymonukleinsäure durch Schimmelpilze. (Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. XXXIX, 1903.)

²⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Botan. Ztg., 1885.)

³⁾ Carnoy, La Biologie cellulaire. (Lierre 1884, p. 237.)

⁴⁾ Schmitz, Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren. (Pringsheim's Jahrbücher, 1884, p. 144.)

⁵⁾ Johow, Die Zellkerne von Chara foetida. (Botan. Ztg., 1881.)

Die Nukleolen von Chara, desgleichen der Laubblätter von Galanthus, Iris, Sambucus verlieren in alternden Zellen schließlich an Substanz. In der Literatur zerstreute Angaben lassen erkennen, daß es sich hier um eine verbreitete Erscheinung handelt.

Bei Spirogyra wurde durch andauernde Verdunkelung eine Verkleinerung der Nukleolen nicht erreicht, während die Pyrenoide sehr stark an Substanz verloren.

Hinsichtlich der Funktionen des Nucleolus ließen sich aus den vorliegenden Daten noch keine Schlüsse ziehen. Die von Strasburger und anderen aufgestellten Vermutungen erwiesen sich als nicht stichhaltig.

Das Resultat der bis zum Jahre 1885 publizierten mikrochemischen Untersuchungen läßt sich folgendermaßen zusammenfassen: Plastin ist in allen Bestandteilen des protoplasmatischen Zellinhaltes vorhanden, desgleichen finden sich verdauliche Eiweißstoffe in wechselnder Menge (namentlich in den Leukoplasten und Nukleolen). Nuklein (d. h. eine Substanz mit den Eigenschaften des löslichen Nukleins von Miescher, ich habe sie in der Folge meist als „Kernnuklein“ bezeichnet) ist nur in den chromatischen Teilen des Zellkerns nachgewiesen.

Nach Carnoy (l. c. p. 230) werden die nukleinhaltigen Teile des Zellkerns in verschiedenartiger Gestaltung und Anordnung von Plastinscheiden umgeben. Auch ich¹⁾ erhielt später nach der Herauslösung des Nukleins mittels konzentrierterer Salzsäure aus den Verdauungsresten der Chromosomen in Pollenmutterzellen von Helloborus Plastinresidua. „Übrigens ist es mir nach den erhaltenen Bildern nicht klar geworden, ob es sich hier nur um Plastinscheiden handelte, innerhalb welcher sich vor der Salzsäurebehandlung das Nuklein befand, oder ob man Plastinresidua vor sich hatte, die nicht lediglich der Peripherie sondern auch dem Innern des Chromosoms entstammten.“

Fraglich blieb, ob die in der Zelle aufgefundenen verdaulichen Eiweißstoffe im Leben etwa an Nukleinstoffe chemisch gebunden waren²⁾, wie es Kossel für das Histon angegeben hat.

Größere, in künstlichem Magensaft lösliche Eiweißansammlungen fanden sich im protoplasmatischen Wandbelag der Zellen, aus welchen

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen (Botan. Ztg. 1887.) Im selben Jahre erschien eine Arbeit von Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, herausgegeben von Ferdinand Cohn, Bd. 5 Heft 1 1887.) Zu einer Besprechung der Arbeit an dieser Stelle besteht indessen keine Veranlassung. Vgl. die Polemik in der Botan. Zeitung, 1887, p. 576, 826 und 1888, p. 69. Ferner: E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, Ergänzungsband, 1895, p. 262) und Zimmermann, Sammelreferate aus dem Gebiet der Zellenlehre. (Botan. Centralblatt, 1893, Beiheft p. 323.)

²⁾ Vgl. Botan. Ztg., 1887, p. 580, 1888, p. 72.

sich die Siebröhren von Cucurbita aufbauen.¹⁾ Eine mikrochemische Untersuchung der Hefe (l. c. 1887 p. 300) führte zu keiner Entscheidung darüber, inwieweit etwa die aus der Hefe dargestellten Nukleinpräparate Kossel's und anderer aus Kernsubstanzen oder aus dem Zellprotoplasma herrührten.

Auch die Dotterkörper tierischer Eier wurden mikrochemisch untersucht. Mit diesen habe ich dann die von Hofmeister als Keimbläschen bezeichneten Körper im Gymnospermenei verglichen. Sie bestehen aus verdaulichen Eiweißstoffen und aus unverdaulichen Substanzen, welche jedoch die Eigenschaften des Kernnuklein nicht besitzen. Die Dotterplättchen des Frosches hinterließen Verdauungsrückstände mit Platinreaktionen. Es mag betont werden, daß durch die Zusammenfassung von Substanzen unter dem Namen Platin (auf Grund ihres mikrochemischen Verhaltens) über den Grad ihrer chemischen Verwandtschaft nichts ausgesagt werden sollte.²⁾

Hinsichtlich der chemischen Literatur über die Dotterelemente und ihrer mikrochemischen Reaktionen ist übrigens auf die Ausführungen in der Botan. Zeitg. 1887 p. 311 usw. und ferner auf Miescher's Briefe über histochemische Probleme allgemeiner Natur p. 83 u. a. a. O. zu verweisen.

In der Folge sind dann in einer Reihe von Arbeiten die vorliegenden Fragen weiter behandelt worden. Eine Zusammenstellung der Einzelergebnisse wird dazu beitragen können, die Präzisierung der Fragstellungen auf dem einschlägigen Gebiet zu fördern.

Häufig werden hier Färbungsreaktionen herangezogen werden.

Über die chemisch-physikalischen Vorgänge, welche den Färbungen der morphologischen Bestandteile der Zelle zugrunde liegen, ist eine umfangreiche Literatur erwachsen.³⁾ Bezüglich der Frage nach der

¹⁾ E. Zacharias, Über den Inhalt der Siebröhren von Cucurbita Pepo. (Botan. Ztg., 1884). G. Kraus, Über die Zusammensetzung des Siebröhrensaftes der Kürbise. (Abhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft zu Halle, Originalaufsätze, Bd. XVI, 1886, p. 376.)

²⁾ Vgl. Botan. Ztg., 1887, p. 582.

³⁾ Unter anderen ist auf folgende Publikationen zu verweisen: E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Botan. Ztg., 1885, p. 264, 265.) — Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns. (Botan. Ztg., 1887, p. 284, 285.) Auerbach, Zur Kenntnis der tierischen Zellen. (Sitzungsber. der k. preußischen Akad. d. Wiss., Juni 1890.) — Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophilie der Keimsubstanzen. (Ebenda, Juni 1891.) Malfatti, Zur Chemie des Zellkerns. (Berichte des naturw. mediz. Vereins in Innsbruck, XX. Jahrg. 1891/92.) P. Mayer, Mitteilungen der zool. Station zu Neapel, Bd. 10 1891—93. Leon Lilienfeld, Über die Wahlverwandtschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen. (Verhandlungen der physiologischen Gesellsch. zu Berlin, Jahrg. 1892/93, No. 11.) E. Zacharias, Über Chromatophilie. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch. 1893.) C. Posner, Farbenanalytische Untersuchungen. (Centralblatt für Physiologie, Literatur 1895, Bd. IX No. 1 p. 43.) Heine, Die Mikrochemie der Mitose, zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden. (Zeitschr. für

Brauchbarkeit dieser Färbungen für die Erkennung bestimmter Substanzen innerhalb der Zelle kann bei der gegenwärtigen Sachlage von einer Diskussion dieser Literatur hier abgesehen werden. Eine neue zusammenfassende Bearbeitung des Gegenstandes kann einstweilen der Zukunft überlassen bleiben. Ist festgestellt, daß unter Einhaltung genau bestimmter Versuchsbedingungen bestimmte Farbenreaktionen eintreten, so ist das zunächst für die in der vorliegenden Darstellung verfolgten Ziele ausreichend.

Zusammenstellung der mikrochemischen Einzelergebnisse.

Um eine Förderung mikrochemischer Untersuchungen auch solcher Objekte, welche makrochemischer Forschung nicht zugänglich sind, zu ermöglichen, schien eine genauere Feststellung des mikrochemischen Verhaltens der chemisch besonders gut bekannten Lachsspermatozoen gegen Quellungs-, Lösungs- und Färbungsmittel wünschenswert, des weiteren dann ein mikrochemischer Vergleich mit dem abweichend beschaffenen Stiersperma. Die in verschiedenen Untersuchungsreihen mitgeteilten Resultate mögen hier zusammengefaßt werden: Miescher hat bereits im Jahre 1874 den feineren Bau der Lachsspermatozoen untersucht. Er unterscheidet am Kopf die Hülle, welche bei weitem die Hauptmasse des Kopfes bildet und den Innenraum. Vom Mittelstück ausgehend, durchsetzt ein schmaler Verbindungsstrang die Hülle und setzt sich in den Innenraum hinein als „Centralstäbchen“ fort.

Nach Miescher lösen verdünnte Salzsäure (0,1proz.) oder Essigsäure den Schwanz rasch, destilliertes Wasser macht ihn bald un-

physiolog. Chemie, XXI, 1896.) E. Zacharias, Über einige mikrochemische Untersuchungsmethoden. (Berichte der deutschen botanischen Gesellsch. 1896.) A. Fischer, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. Galeotti, Beitr. zur Kenntn. d. bakteriellen Nucleoproteide. (Zeitschr. für physiolog. Chemie, 1898.) A. Fischer, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. (Jena 1899.) E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (Abhandl. aus dem Gebiete der Naturw., herausgeg. vom naturw. Verein Hamburg, 1900.) Pappenheim, Grundriß der Farbchemie zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. (Berlin 1901.) — Färbetechnisches zur Kenntnis der Spermatozomata hominis. (Biolog. Centralblatt, XX No. 11, 1900.) — Zur Kenntnis u. Würdigung der Methylgrün-Pyronin-Reaktion. (Folia haematologica, Internationales Centralorgan für Blut- u. Serumforschung, herausgeg. von A. Pappenheim, Leipzig 1908, Bd. VI.) Heidenhain, Über chemische Umsetzungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben. (Archiv für die ges. Physiologie, Bd. 90, 1902.) Hinsichtlich weiterer den Gegenstand betreffender Arbeiten Heidenhain's vgl. dessen Werk über Plasma und Zelle (Jena 1907) sowie die dort mitgeteilten Literaturangaben. Aron, Über organische Kolloide II. (Biochem. Centralblatt, Bd. IV p. 510, Leipzig 1905.) Hansen, Über die Ursachen der metachromatischen Färbungen bei gewissen basischen Farbstoffen. (Zeitschr. für wissenschaftl. Mikroskopie, XXV, 1908.) Vgl. auch eine Reihe von einschlägigen Arbeiten Unna's in den Monatsheften für praktische Dermatologie.

deutlicher (l. c. 1874), zerstört ihn fast augenblicklich (1896). Kochsalzlösung von 10 Proz. läßt ihn schärfer hervortreten. „Am besten hält er sich intakt in einer Glaubersalzlösung von ungefähr 1,020 spez. Gew.“ (1896). Durchaus ähnlich verhält sich das Mittelstück. Am Kopf tritt auf Zusatz von Essigsäure oder sehr verdünnter Salzsäure (0,1proz.) die Hülle stark lichtbrechend hervor. In 10proz. Kochsalzlösung oder halbgesättigter Salpeterlösung quillt und erbläht sie sofort. Im Beginn der Kochsalzwirkung „sieht man nicht selten die erblähte Hülle durchsetzt von einem feinen, nunmehr relativ stärker lichtbrechenden Faden, der sich vom Mittelstück aus ins Innere begibt.“

Ist aus dem entfetteten Sperma mit 1—2proz. HCl das Protamin extrahiert, so zeigen die Köpfe noch Hülle und Inhalt, quellen nicht mehr im Kochsalz, dagegen etwas in destilliertem Wasser. Wie sich chemisch Hülle und Inhalt unterscheiden, ist nicht bekannt. Jedenfalls ist sicher, daß die Hüllen die weit überwiegende Hauptmasse, des zu etwa 95 Proz. aus Salminnukleinat bestehenden Kopfes ausmacht.

In Übereinstimmung mit Miescher's Angaben fand ich¹⁾, daß auf Zusatz von 0,3proz. Salzsäure zu frischem Sperma die Schwänze und Mittelstücke unkenntlich werden, während die Kopfhüllen sofort stark schrumpfen und ein glänzendes, scharf umschriebenes Aussehen erhalten. Konzentrierte Essigsäure verwandelte den ganzen Kopf in einen glänzenden, etwas vakuolig aussehenden Körper. 10proz. Kochsalzlösung ließ die Köpfe zu sehr blassen Kugeln aufquellen, welche schließlich nur noch mit Schwierigkeit wahrzunehmen waren.

Nach Einwirkung von verdünnter Salzsäure (100 Vol. destillierten Wassers auf 1½ Vol. reine konzentrierte Salzsäure) auf Sperma, welches mit Alkohol und Äther erschöpft worden war, erhielten die Spermatozoen dasselbe Aussehen wie die frisch mit verdünnter Salzsäure behandelten. Nachdem die Säure einige Stunden bei Zimmertemperatur eingewirkt hatte, wurde abfiltriert und nun konnte im Filtrat durch Platinchlorid Protamin nachgewiesen werden. Wie Schmiedeberg indessen gezeigt hat, bleibt nach der Extraktion mit verdünnter Salzsäure ein Teil des Protamins in den Köpfen zurück. Auch können Umwandlungsprodukte der Nukleinsäure beim Aufbewahren der mit Salzsäure extrahierten Köpfe entstehen. Die mikrochemischen Reaktionen, welche man an den mit verdünnter Salzsäure behandelten Kopfhüllen wahrnimmt, sind also nicht diejenigen reiner Nukleinsäure: Nach Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure auf Alkohol-

¹⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1893, Bd. XI, Heft 5.)

material wurde konzentriertere Salzsäure zugesetzt (1 Vol. reine Salzsäure spec. Gew. 1,19 von Merck + 1 Vol. destillierten Wassers).¹⁾ Nun verschwanden die Köpfe langsam, die Schwänze blieben aber scharf und deutlich erhalten. Auswaschen mit 0,28proz. Salzsäure veranlaßte darauf eine Quellung der letzteren. Von den Köpfen trat nichts wieder hervor. Als Lachssperma (Alkoholmaterial) direkt in die Salzsäure von der soeben angegebenen höheren Konzentration eingetragen wurde²⁾, verblaßten die Köpfe während die Schwänze gut erhalten blieben. Am Kopfende der Schwänze sah man nach 24 Stunden nur noch eine kleine Verdickung, das Mittelstück. Nach 48stündiger Behandlung mit einer Mischung von Alkohol und Äther zu gleichen Teilen war von den Köpfen nichts wieder hervorgetreten. Auf Zusatz von 0,28proz. Salzsäure verloren die Schwänze an Schärfe und Deutlichkeit, von den Köpfen war auch nach 24stündiger Einwirkung der verdünnten Säure nichts wiederzuerkennen. In reiner Salzsäure (spec. Gew. 1,19 von Merck) färbte sich Lachssperma (Alkoholmaterial) alsbald rein violett und bildete nach 24 Stunden eine gelatinöse Masse, in welcher keine geformten Teile zu erkennen waren.

Nach 14stündiger Einwirkung von Salzsäure (0,3proz.) auf frisches Sperma zeigten die homogen und glänzend aussehenden Hüllen der Köpfe folgende Reaktionen: Kochsalzlösung (10proz.) bewirkte starke Quellung. Die Hüllen wurden zu homogenen, äußerst blassen Gebilden, welche nach 24stündiger Dauer der Kochsalzwirkung keine weitere Veränderung zeigten. Auf Zusatz von Salzsäure (0,3proz.) ging die Quellung zurück, und die Hüllen nahmen wieder ihr früheres glänzendes scharf umschriebenes Aussehen an. Auch Sodalösung ($\frac{1}{2}$ proz.) ließ die Hüllen rasch zu blassen, schwer erkennbaren Kugeln aufquellen. (Vor dem Zusatz der Sodalösung war die verdünnte Salzsäure durch Auswaschen mit Wasser entfernt worden.)

Nach 24stündiger Einwirkung der Sodalösung wurde diese wieder durch 0,3proz. Salzsäure verdrängt. Die Quellung ging nun zurück, doch zeigten sich die Köpfe etwas deformiert, zum Teil mit, zum Teil ohne Glanz, erschienen sie substanzärmer als nicht mit Soda behandelte Köpfe nach Einwirkung von 0,3proz. Salzsäure. In 1proz. Na_2HPO_4 -Lösung quollen die Hüllen sofort, blieben jedoch als sehr blasse Körper auch nach 24stündiger Behandlung mit dem Reagens sichtbar (vor Zusatz des letzteren wurde die Salzsäure durch Auswaschen mit Wasser entfernt). Zusatz von 0,3proz. Salzsäure ließ die Quellung sofort wieder zurückgehen. Die Hüllen erlangten meist

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1901, p. 387.)

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (Abh. des naturw. Vereins Hamburg, 1900, S.-A. p. 28.)

wieder ihr glänzendes Aussehen. Konzentrierte Salzsäure (4 Vol. reine konzentrierte Salzsäure auf 3 Vol. Wasser) ließ die Hüllen rasch verblassen, während zwischen den Köpfen glänzende Körnchen sichtbar wurden. Nach einiger Zeit waren die Hüllen nicht mehr zu erkennen.

Zu einem Verdauungsversuch wurde Sperma verwendet, welches frisch in absoluten Alkohol eingetragen, und 3 Tage darin aufbewahrt worden war. Der Alkohol wurde zwischen Fließpapier abgepreßt, worauf das Sperma einer 20stündigen Einwirkung von künstlichem Magensaft bei 30—32° C ausgesetzt wurde. Die Köpfe hatten nunmehr dasselbe Aussehen erhalten wie nach der Einwirkung von 0,3proz. Salzsäure auf frisches Material. Die Wirkung von künstlichem Magensaft, der teils aus Schweinemagen, teils aus Hundemagen hergestellt worden war, auf Lachssperma (Alkoholmaterial) habe ich des weiteren noch eingehender geprüft¹⁾, und gefunden, daß unter Bedingungen, unter welchen die Schwänze und Mittelstücke der Spermatozoen verschwinden, in Alkohol aufbewahrtes Fibrin, mit Alkohol gefälltes Hühnereiweiß und in destilliertem Wasser gekochtes Hühnereiweiß von künstlichem Magensaft gelöst werden, die Köpfe der Spermatozoen jedenfalls der weit überwiegenden Hauptmasse nach nicht gelöst werden. Dasselbe Resultat ergab auch die Verwendung eines von Hegler als außerordentlich wirksam empfohlenen Pepsinpräparates (1:3000 trocken Eiweiß) aus der chemischen Fabrik von Dr. Chr. Brunnengräber in Rostock.²⁾

Inwieweit durch das eingeschlagene Verdauungsverfahren das Protamin abgespalten wurde und reine unveränderte Nukleinsäure zurückblieb, ist nicht sicher. Die Verdauungsreste schienen, nachdem sie 24 Stunden in absolutem Alkohol gelegen hatten³⁾, bei der Untersuchung in Alkohol lediglich aus den Hüllen der Köpfe zu bestehen, Schwänze waren wenigstens nicht wahrzunehmen.

Für das Eintreten einer Lösung von Schwänzen und Mittelstücken durch künstlichen Magensaft sprechen auch die folgenden Versuche⁴⁾:

Lachssperma (Alkoholmaterial) gelangte gleichzeitig mit einer Flocke in Alkohol aufbewahrten Fibrins bei Zimmertemperatur in künstlichen Magensaft. Nach 7 Stunden war die Fibrinflocke gelöst, das Sperma hingegen, welches als zusammenhängende Masse in die Flüssigkeit gelangt war, bildete nunmehr einen weißen, pulverigen Bodensatz. Dieser bestand aus den Köpfen der Spermatozoen. Die

¹⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft., 1898, p. 190.)

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (Jahrb. d. hamburgischen wiss. Anstalten, 3. Beiheft, Arbeiten des Bot. Inst. Hamburg, 1904, p. 63.)

³⁾ E. Zacharias, 1893, l. c., p. 295.

⁴⁾ E. Zacharias, 1898, l. c., p. 188.

Schwänze, welche vorher die Masse durch gegenseitige Verschlingung zusammengehalten hatten, waren nicht mehr zu erkennen, ebensowenig die Mittelstücke.

Ferner konnten auch in anderen Verdauungsresten durch ein weiter unten zu beschreibendes Färbungsverfahren, welches in nicht verdaulichem Alkoholmaterial Mittelstücke und Schwänze besonders deutlich hervortreten läßt, diese Formelemente nicht sichtbar gemacht werden. Anders als bei dem soeben geschilderten Verdauungsversuch verhielt sich das Sperma (Alkoholmaterial) nach siebenstündigem Verweilen in 0,28proz. Salzsäure. Es bildete zusammenhängende Flocken, in welchen durch Färbung die Schwänze sichtbar gemacht werden konnten. Demgegenüber hat Miescher mitgeteilt, daß sich die Schwänze in 0,1proz. Salzsäure rasch lösen.

Die Verdauungsreste der Köpfe zeigten nach Behandlung mit Alkohol folgende Reaktionen¹⁾: Auf Zusatz von Salzsäure (4:3) verblaßten die Hüllen langsam bis zum Verschwinden. Das Präparat wurde nun 24 Stunden derartig aufbewahrt, daß die Salzsäure sich nicht durch Anziehen von Wasser verdünnen konnte. Darauf ließ die mikroskopische Untersuchung nur noch undeutliche, formlose Massen erkennen, in welchen auch nach dem Auswaschen mit 0,3proz. Salzsäure keine Spur der Hüllen mehr aufzufinden war. Verdünnte Kalilauge (etwa $\frac{1}{2}$ Proz.) veranlaßte sofortige starke Quellung der Hüllen. Wusch man nun rasch mit 0,3proz. Salzsäure aus, so ging die Quellung zurück, die Hüllen nahmen ihre frühere Gestalt wieder an. Hatte man jedoch 4—5proz. Kalilauge angewendet, so verschwanden die Hüllen alsbald, und wusch man nun rasch mit 0,3proz. Salzsäure aus, so wurden zwar glänzende Massen ausgefällt, in diesen war aber die Gestalt der Hüllen nicht zu erkennen. Nach 24stündiger Einwirkung von Kalilauge (etwa $\frac{1}{2}$ Proz.) sah man auf dem Objektträger dort, wo sich die Spermamasse befunden hatte, makroskopisch nur noch eine ganz leichte Trübung, mikroskopisch kleine Körnchen. Durch Behandlung mit absolutem Alkohol ließ sich von den Hüllen nichts wieder sichtbar machen. In Sodalösungen von $\frac{1}{2}$ Proz. und 1 Proz. quollen die Hüllen sofort stark und erschienen nach 24 Stunden nicht weiter verändert. Auswaschen mit Salzsäure 0,3proz. hob darauf die Quellung alsbald wieder auf. Kochsalzlösung von 10 Proz. verursachte nur geringe Quellung der Hüllen, welche auch nach 24stündiger Einwirkung der Lösung keine Steigerung erfuhr und dann auf Zusatz von 0,3proz. Salzsäure sofort wieder zurückging.

Aus der nach Einwirkung von verdünnter Salzsäure in den Köpfen der Lachsspermatozoen zurückbleibenden Substanz erhielt Miescher durch Lösen mit Natronlauge und Ausfällen mit Salzsäure Nuklein-

¹⁾ E. Zacharias, 1893, l. c., p. 296.

säure. Dieses Präparat stimmt mit den Verdauungsresten der Spermatozoenköpfe darin überein, daß es in verdünnter Salzsäure unlöslich, in konzentrierter Salzsäure und in kaustischem Alkali löslich ist. Frisch gefällte Nukleinsäure ist aber leicht löslich in Soda und Na_2HPO_4 -Lösungen, während die Verdauungsreste der Spermatozoenköpfe darin nur quellen. Doch hebt längeres Stehen der Nukleinsäureniederschläge deren Löslichkeit in Soda und Na_2HPO_4 gleichfalls auf (Miescher, 1874, l. c., p. 25).

Verhalten des Lachssperma gegen Farbstoffe.

In mit Wasser abgespültem Alkoholmaterial färbte Essigkarmin nach Schneider die Köpfe sofort rot. Die Schwänze wurden nicht gefärbt. Nach 24stündiger Einwirkung des Farbstoffes waren die Schwänze unverändert, die Köpfe intensiv rot und scharf konturiert.¹⁾

In einer Methylgrünlösung, welche auf 100 g Wasser 1 g reine konzentrierte Essigsäure enthielt, färbten sich die Kopfhüllen von Alkoholmaterial sehr schön ohne zu quellen. Schwanz, Mittelstück sowie der schmale, die Hülle an der Basis durchsetzende Verbindungsstrang, welcher vom Mittelstück bis zum Innenraum reicht, färbten sich nicht, ebensowenig der Innenraum.²⁾ Miescher hat mit einer Methylgrünfärbung von abweichender Zusammensetzung ein anderes Färbungsergebnis erhalten: „Behandelt man (sagt Miescher³⁾) schneeweißes Sperma von einem lebenden Lachs mit einer Flüssigkeit die 1 Proz. Essigsäure, 9–10 Proz. Glaubersalz und ziemlich viel Methylgrün enthält, so sieht man mit Zeiß' Apochromat 4 mm, Ocul. 12, eine prächtig grüne und scharfe Färbung des Innenraums, der wie ein Smaragd glänzt, während die Hülle sich gar nicht oder nur schwach färbt.“

Diese Angaben habe ich⁴⁾ nicht bestätigen können: Lebendes Sperma vom Lachs wurde in eine Methylgrünlösung eingetragen, welche auf 100 g Wasser 10 g Glaubersalz und 1 g reine konzentrierte Essigsäure enthielt. Darauf verquoll bei zahlreichen Spermatozoen der Kopf sofort unter gleichzeitiger Grünfärbung. Die Stelle des Kopfes wurde dann von einem verschwommenen hellgrünen Flecke eingenommen. Schwanz, Mittelstück und Centralstäbchen blieben durchaus ungequollen und ungefärbt erhalten. An einzelnen quellenden Köpfen glaubte ich eine dieselben umspannende äußerst zarte Haut zu erkennen, welche schließlich zu platzen schien. Am Mittelstück konnten

¹⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. 1900, l. c., p. 29.

²⁾ E. Zacharias, 1896, l. c., p. 273.

³⁾ Schmiedeberg, l. c. 1896.

⁴⁾ E. Zacharias, 1898, l. c., p. 194.

dann, während der Kopf sich in einen hellgrünen, verschwommenen Fleck ohne jede scharfe Abgrenzung verwandelt hatte, zarte, zerknitterte Hautfetzen erkannt werden. Bei manchen Köpfen erfolgte die Verquellung langsamer unter verschiedenartigen Erscheinungen. Sie quollen zunächst nicht und färbten sich stark. Das Verhalten des Innenraums war nicht festzustellen. Manche dieser Köpfe sah ich nach und nach, nachdem sie eine vakuolige Beschaffenheit angenommen hatten, verquellen, während andere sich längere Zeit hindurch nicht veränderten. Auch Zustände wie Fig. 3 (l. c.) wurden beobachtet. Eine schwach gefärbte, gequollene äußere Partie des Kopfes umgab eine innere, nicht homogene, intensiv gefärbte Masse. Dieser Zustand schien dem von Miescher beschriebenen ähnlich zu sein. Ob hier indessen die innere gefärbte Masse aus der Substanz des Innenraumes, oder aus inneren, nicht verquollenen Teilen der Hülle bestand, blieb zweifelhaft. Als zu einer zusammenhängenden Spermasmasse (Alkoholmaterial), welche in destilliertem Wasser auf dem Objektträger lag, die Glaubersalzlösung hinzufloß, färbten sich die am Rande der Spermasmasse liegenden Köpfe sofort intensiv. Dann erfolgte eine Verquellung der Köpfe unter Abnahme der Färbungsintensität. Die Verquellung des einzelnen Kopfes schritt von außen nach innen fort, dergestalt, daß eine hellgrüne, verquollene, nach und nach breiter werdende Zone einen intensiv grünen, sich nach und nach verkleinernden und endlich verschwindenden Innenkörper umgab. Wahrscheinlich durchdringt zunächst nur Essigsäuremethylgrün den Kopf und färbt die Hülle, wie das weiter oben geschildert worden ist. Nun folgt das Glaubersalz und bewirkt (unter Umständen sehr langsam fortschreitend) die Verquellung. Wahrscheinlich waren die smaragdgrünen Innenkörper Miescher's nichts anderes als nicht verquollene innere Teile der Hüllen. Eine gute Färbung der Schwänze und Mittelstücke läßt sich erzielen, wenn man in der Glaubersalzlösung das Methylgrün durch Fuchsin S ersetzt. Nach längerer Einwirkung dieser Lösung auf Alkoholmaterial bleiben von den übrigens verquollenen Köpfen nur äußerst zarte Gebilde sichtbar, welche möglicherweise einer äußerst zarten Hüllhaut entsprechen.¹⁾

Im Anschluß an entsprechende Untersuchungen anderer Objekte von Auerbach²⁾ habe ich Färbungen des Lachsspermas mit einem Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S geprüft.³⁾ In diesem Ge-

¹⁾ E. Zacharias, 1901, l. c., p. 378.

²⁾ Auerbach, Zur Kenntnis der tierischen Zellen. (Sitzungsber. der k. preussischen Akad. d. Wiss., Juni 1890). — Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophilie der Keimsubstanzen (l. c. Juni 1891).

³⁾ E. Zacharias, Über Chromatophilie. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft, 1893 p. 190.) — Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma u. Zellkern. l. c., 1893, p. 294. — Über einige mikroskopische Untersuchungsmethoden, l. c., 1896, p. 275. — Über die Cyanophyceen, l. c., 1900, p. 28, 45.

misch färbten sich die Kopfhüllen leuchtend blau, als Sperma, welches frisch in 0,3proz. Salzsäure eingetragen, und nach 5stündigem Verweilen in der Säure in Alkohol gebracht worden war, zur Verwendung kam. Dasselbe war der Fall bei Sperma, welches frisch in absoluten Alkohol eingelegt und darauf 20 Stunden bei 32° C mit Verdauungsflüssigkeit behandelt worden war, um schließlich in Alkohol aufbewahrt zu werden. Frisch in Alkohol eingetragenes Sperma, welches keine Säurewirkung erfahren hatte, nahm verhältnismäßig schwach blaue Färbung an. In einem bestimmten Fall wurde aus dem lebenden Fisch gewonnenes, längere Zeit in Alkohol aufbewahrtes reifes Lachs-sperma auf 20 Stunden in Salzsäure von 0,3 Proz. eingelegt und dann nach kurzem Verweilen in absolutem Alkohol in der Methylenblau-Fuchsin S-Mischung untersucht. Die Köpfe färbten sich rasch intensiv leuchtend blau, die Schwänze rein rot. Bei guter Beleuchtung und sorgfältiger Einstellung erkannte man im Innern der Köpfe eine nicht gefärbte Partie. Es waren nur die Hüllen blau gefärbt worden. In einer gleichzeitig unter demselben Deckglase befindlichen Probe des nicht mit Salzsäure behandelten, in Alkohol aufbewahrten Sperma färbten sich die Köpfe sehr viel blasser, die Schwänze gar nicht. Nach 2stündiger Einwirkung der Farblösung waren die Färbungsunterschiede des mit Säure vorbehandelten und des nicht mit Säure vorbehandelten Materials noch dieselben. Auswaschen des Säurematerials mit destilliertem Wasser vor der Färbung verhinderte das Eintreten einer intensiven Blaufärbung der Köpfe nicht.

In Alkohol aufbewahrte Spermatozoen, welche 2 Tage in 0,28proz. Salzsäure gelegen hatten, zeigten nach dem Einbringen in Fuchsin S rot gefärbte Schwänze und farblose Köpfe.

Demnach färbt sich derjenige Teil der Spermatozoen, welcher vorwiegend aus nukleinsäurem Protamin besteht, die Kopfhülle intensiv in Essigkarmin nach Schneider und in essigsaurer Methylgrünlösung, während die (abgesehen von Stoffen, welche in Alkohol und Äther löslich sind) aus Eiweißstoffen bestehenden Schwänze und Mittelstücke ungerärbt bleiben. Nach Säurevorbehandlung färben sich in einem Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S die nukleinsäurehaltigen Teile intensiv blau, die Schwänze und Mittelstücke rot.

Anders als das Lachssperma verhält sich wie in makrochemischer Hinsicht so auch in seinen mikrochemischen Reaktionen das Stiersperma: Das folgt schon aus den Angaben Kölliker's.¹⁾ Salzsäure

¹⁾ Kölliker, Physiologische Studien über die Samenflüssigkeit. (Zeitschr. für wissensch. Zoologie, 1856.)

verändert in der Kälte nach Köl liker die Samen fäden des Stieres nicht, auch „kaustische Alkalien wirken in der Kälte fast nicht, mag man 1proz. oder 50proz. Lösungen anwenden. Bei erhöhter Temperatur lösen sich erst die Fäden und viel später die Köpfe, letztere jedoch selbst in 50proz. KO und NaO-Solutionen langsam“. Dem entsprechend sagt Miescher (l. c. 1874): „Die geweb sbildende Grundlage der Stierspermatozoen gehört bekanntlich zu den resistentesten Gewebssubstanzen. Die Schwänze erblassen noch in kalter Kalilauge und lösen sich langsam. Die Köpfe zergehen nur in warmen Lösungen fixer Alkalien“. Auch in verdünnter Salzsäure (0,1proz.) hat Miescher das Sperma untersucht, und bemerkt, es bleibe keine andere Deutung des Gesehenen übrig, als die Annahme einer stärker lichtbrechenden, ziemlich dicken Kopfhülle (der Kopfhülle des Lachses entsprechend, jedoch nicht zu verwechseln mit der Kopfkappe der neueren Autoren), welche eine platte, wahrscheinlich sehr dünne Einlage einer optisch und chemisch differenten Substanz umschließt“. Ich habe mich von dem Vorhandensein dieser Kopfhülle nicht überzeugen können.¹⁾ Nach 24stündiger Behandlung von frischem Sperma mit 0,28proz. Salzsäure erschienen Köpfe und Schwänze (erstere von der Fläche gesehen) gleichmäßig blaß und glanzlos, ebenso nach der Einwirkung der verdünnten Säure auf Alkoholmaterial. Als die 0,28proz. Säure durch konzentriertere ersetzt worden war (1 Vol. HCl pur., spec. Gew. 1,19 von Merck + 1 Vol. Aq. dest.), waren nach 24 Stunden Köpfe und Schwänze noch wohl erhalten. Auch reiner konzentrierter Salzsäure widerstanden die Köpfe. Nach 24stündigem Verweilen in der Säure hatte sich das Sperma als feines Pulver in der Flüssigkeit verteilt. Die Köpfe waren anscheinend unverändert, scharf konturiert und glänzend. Von den Schwänzen war entweder nichts zu erkennen oder nur ein kurzes, sehr blasses, der Kopfbasis ansitzendes Stück.

Nach Miescher gelingt es durch Behandlung mit künstlichem Magensaft „in der Regel die Köpfe vollständig zu isolieren, feine zerbröckelnde Fädchen als Reste der Schwänze widerstehen hartnäckig, lösen sich aber doch schließlich auf“. Ich fand nach 24stündiger Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit auf frisches Sperma bei Zimmertemperatur die Köpfe wie nach der Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure, die Schwänze waren blaß und glanzlos. Nach 48stündigem Verweilen der Sperma masse bei Zimmertemperatur in der Verdauungsflüssigkeit wurde letztere erneuert und darauf für 24 Stunden die Temperatur auf 18—22° R gesteigert. Sehr viele Köpfe lagen dann von den Schwänzen getrennt, letztere waren blaß und oft schwer erkennbar, das Aussehen der Köpfe aber hatte sich nicht verändert.

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch., 1901, p. 386.)

Die Spernamasse wurde nun noch weiter 24 Stunden bei der angegebenen Temperatur in der Verdauungsflüssigkeit belassen, ohne daß eine weitere Veränderung bemerkbar wurde. In Fuchsin S-Lösung (0,25 g in 250 ccm Wasser) färbten sich nun Kopf und Schwanz sofort, aber nicht intensiv. Das lange, sehr feine Ende des Schwanzes schien durch die Pepsinlösung gelöst worden zu sein, nur der dickere, an den Kopf angrenzende Teil war in dem gefärbten Präparate zu erkennen.

Das mit Verdauungsflüssigkeit behandelte Sperma wurde nun auf mehrere Tage in absoluten Alkohol gelegt und sodann unter Alkohol mit frisch in Alkohol eingelegtem Sperma verglichen. An den Köpfen konnte kein Unterschied wahrgenommen werden, während die Schwänze des verdauten Materials substanzärmer erschienen als diejenigen des nicht verdauten.

Fuchsin S-haltige Glaubersalzlösung (10 g Glaubersalz „pro analysi“ von Merck und 1 g Eisessig auf 100 g Wasser) brachte selbst bei 3 tägiger Einwirkung auf das frische Sperma keine Quellung der Köpfe hervor; sie erhielten eine zarte Färbung. Auch die Schwänze quollen nicht. Sie färbten sich gut in ihrer ganzen Ausdehnung. Vergleicht man mit diesen gefärbten Schwänzen solche, welche vor gleichartiger Färbung 48 Stunden in der Wärme mit Verdauungsflüssigkeit behandelt worden sind, so ergibt sich, daß die Schwänze durch Verdauung erheblich an Substanz verlieren. Die Abweichungen in den von mir erzielten Verdauungsergebnissen von denjenigen Miescher's hängen jedenfalls mit Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der verwendeten Verdauungsflüssigkeiten zusammen. Am Kopfe erkennt man nach der Behandlung von Alkoholmaterial mit Glaubersalz-Fuchsin S-Lösung eine zarte Querlinie. Es handelt sich hier um den hinteren Rand der beim Stier sehr zarten Kopfkappe. An Präparaten, welche frisch mit Verdauungsflüssigkeit, darauf mit Alkohol und schließlich mit Glaubersalz-Fuchsin S-Lösung behandelt worden waren, erkannte ich die Grenze der Kopfkappe nicht. Über die Einwirkung von Farbstoffen auf das Stiersperma wurde noch folgendes ermittelt: In Präparaten, welche durch 48-stündige Behandlung frischen Materials mit 0,28proz. Salzsäure gewonnen worden waren, färbte Fuchsin S-Lösung sofort die ganzen Spermatozoen rot mit Ausnahme einer kleinen Stelle an der Schwanzbasis. Zusatz von Methylenblaulösung färbte nach 24stündiger Behandlung frischen Materials mit 0,28proz. Salzsäure die Schwänze nicht, auch die Köpfe erschienen von der Fläche gesehen farblos, nur in der Ansicht von der Kante bemerkte man eine zarte Färbung. Dasselbe Ergebnis hatte ein Methylenblauzusatz zu Sperma, welches frisch auf 48 Stunden bei Zimmertemperatur in Verdauungsflüssigkeit eingelegt worden war. Auf Zusatz einer Mischung von Fuchsin S

und Methylenblau zu frisch auf 24 Stunden in 0,28proz. Salzsäure eingelegtem Sperma färbten sich, abgesehen von der Stelle an der Schwanzbasis, welche farblos blieb, die ganzen Spermatozoen intensiv rot.

Die makrochemisch nachgewiesene Verschiedenheit der Spermatozoen vom Lachs und Stier kommt auch in den mikrochemischen Reaktionen scharf zum Ausdruck.

Die Spermatozoen des Ebers zeigen gegen Salzsäure, Verdauungsflüssigkeit, Fuchsin S-haltige Glaubersalzlösung, Methylenblau und Fuchsin S-Lösungen, diejenigen des Widders gegen Salzsäure, Methylenblau-Fuchsin S-Lösung und Glaubersalzlösung dasselbe mikrochemische Verhalten wie die Spermatozoen des Stieres.

Die Spermatozoen des Meerschweinchens besitzen eine stark entwickelte Kopfkappe.¹⁾ Werden sie frisch in Glaubersalz-Fuchsin S-Lösung gebracht, so schrumpft die Kopfkappe, verliert ihre homogene Beschaffenheit und färbt sich. Der Kernteil des Kopfes bleibt unverändert. Er zeigt keine Quellung. Zuweilen löst sich die Kopfkappe ab. Der Kopf erscheint dann völlig glatt konturiert, homogen, ganz schwach rosa gefärbt. Der Schwanz färbt sich, desgleichen die „Knöpfchen“. Das „Endstück“ des Schwanzes setzt sich deutlich gegen das „Hauptstück“ ab. Vom „Hals“ aus zieht sich eine helle Linie in den Schwanz hinein.

Auf Zusatz von 0,28proz. Salzsäure zu lebenden Spermatozoen verschwinden die Kopfkappen. Der Kernteil des Kopfes bleibt glatt konturiert und homogen zurück, von der Fläche gesehen glanzlos wie der Schwanz, von der Kante gesehen mit starkem Glanz gegen den blassen Schwanz abgesetzt. Behandelt man nun mit Methylenblau-Fuchsin S-Lösung, so färbt sich alsbald alles rot, die Kopfkappen werden nicht wieder sichtbar.

Auch die Spermatozoen des Menschen scheinen sich in ihrem mikrochemischen Verhalten den übrigen bisher untersuchten Säugetierspermatozoen anzuschließen, während die Spermatozoen von Triton, Salamandra, Anodonta, Toxopneustes, Farnen, Moosen und Characeen denjenigen des Lachses nahestehen. Eingehendere Angaben liegen zunächst vor über das Sperma vom Triton und Salamandra: Schon Schweigger-Seidel²⁾ fand, daß reine Salzsäure den Kopf der Spermatozoen von *Triton taeniatus* verschwinden läßt, während Schwanz und Mittelstück erhalten bleiben. Der Kalilauge vermag nach demselben Autor das Mittelstück besser zu widerstehen als der Kopf.

¹⁾ F. Meves, Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. (Arch. für mikr. Anat., Bd. 54, 1899.)

²⁾ Schweigger-Seidel, Über die Samenkörperchen und ihre Entwicklung. (Max Schultze, Archiv für mikr. Anat., 1865, Bd. 1, p. 314.)

Essigsäure löst den Schwanz, während Kopf und Mittelstück übrig bleiben. Letzteres schwillt etwas an, und man sieht von ihm aus eine feine Membran über den Kopf sich hinziehen.

Henneage Gibbes¹⁾ teilt für Triton und Salamandra mit, daß der Kopf und die Membran am Schwanze sich in $\frac{1}{2}$ –5proz. Kochsalzlösung lösen, während die übrigen Formbestandteile des Samenfadens erhalten bleiben. Doppelkohlensaures Natron verwandelt innerhalb 41 Stunden den Kopf in ein Aggregat kleiner Kügelchen, welche nach einiger Zeit verschwinden. Diesen Angaben konnte ich noch folgendes hinzufügen²⁾: Behandelt man Spermatozoen von *Triton cristatus*, welche den Ausführungsgängen entstammen und lebhafte Bewegung ihrer Schwanzmembran zeigen, mit Pepsinlösung, so wird der Kopf sehr stark lichtbrechend und scharf konturiert, man erkennt deutlich die dunkle Längslinie, welche ihn durchzieht. Das Mittelstück quillt auf und wird gelöst bis auf eine zarte peripherische Partie, welche jetzt allein die Verbindung von Kopf und Schwanz vermittelt. Zwischen beiden befindet sich nunmehr anstatt des soliden Mittelstücks ein ellipsoidisches Bläschen. Der Körper des Schwanzes wird außerordentlich blaß. Die Membran geht in Lösung, während das Filament erhalten bleibt. Dieses Verhalten des Schwanzes und seiner Anhangsorgane wird besonders deutlich, wenn man nach Beendigung der Pepsinwirkung konzentrierte Salzsäure hinzutreten läßt. Der Schwanz tritt dann sehr stark hervor und wird stark lichtbrechend, an seinem vorderen Ende zeigt er einen kleinen Einschnitt, in welchen die Basis des Mittelstückes hineinpaßte. Er wird von dem feinen Filament umschlungen. Der Kopf wird von der konzentrierten Salzsäure langsam gelöst bis auf das dünne zugespitzte Ende, welches der Säure dauernd widersteht und stark lichtbrechend bleibt. An der Basis dieser ungelösten Kopfspitze bemerkt man nach Beendigung der Säurewirkung hier und da noch ein sehr zartes Häutchen als Residuum des eigentlichen Kopfes.

Verdünnte Kalilauge löst nach 24stündiger Behandlung des Samenfadens mit Pepsinlösung den Kopf mit Ausnahme der Spitze. Der Schwanz wird nicht gelöst. Hat verdünnte Sodalösung 24 Stunden lang auf Samenfäden eingewirkt, die vorher einer 24stündigen Verdauung ausgesetzt waren, so sind die Schwänze nur sehr wenig, die Köpfe aber stark gequollen. Dabei sieht man hier deutlich an Stelle der dunklen Längslinie eine schwächer lichtbrechende centrale Partie, welche von einer dicken, etwas stärker lichtbrechenden Hülle umgeben wird.

¹⁾ Henneage Gibbes, On the structure of the vertebrate Spermatozoon (Quarterly Journal of microscopical Science, vol. XIX, New Series, 1879.)

²⁾ E. Zacharias, Über die Spermatozoiden. (Bot. Ztg., 1881.)

In einem Falle behandelte ich junge Spermatozoen aus einem zerschnittenen Hoden mit Pepsinlösung. Hier wurden außer dem Innern des Mittelstückes auch noch die Schwänze gelöst, und es konnten durch nachträglichen Zusatz einer Lösung von Jod in Jodkali auch keine Reste derselben sichtbar gemacht werden. Ließ man nach 4stündiger Pepsinwirkung verdünnte Kochsalzlösung (10 Teile in der Kälte gesättigter Lösung auf 15 Teile Wasser) hinzutreten, so quoll zunächst besonders die mittlere Partie des Kopfes, dann der ganze Kopf sehr stark auf, so daß er kaum noch wahrzunehmen war. Wurde nun aber eine Lösung von Jod in Jodkali hinzugefügt, so stellten sich die früheren Formverhältnisse wieder her.

Heine¹⁾ untersuchte *Salamandra maculata* und *Triton cristatus*. Er fixierte die Objekte in 90proz. Alkohol, dann in Alk. abs. je für wenige Stunden, bettete in Celloidin ein und schnitt. Nach Behandlung mit Salzsäure (4 Teile konzentrierte Säure mit 3 Teilen Wasser) blieben nur noch morphologisch erkennbar: die Kopfhüllen und die Schwänze. Sehr verdünnte Natronlauge ($\frac{1}{10}$ normal = 0,4 Proz.) wirkte ähnlich. Die Köpfe waren wie ausgelaugt, die Hüllen und Schwänze blieben zurück.

Nach 1—1 $\frac{1}{2}$ stündiger Verdauung mit Pepsinsalzsäure bei 40° C waren die Salamanderspermatozoenköpfe völlig ausgelaugt (p. 499).

Heine gewann seine Pepsinsalzsäure durch Verreiben von frisch abpräparierter Schweinsmagenschleimhaut mit 0,8proz. HCl, während ich bei meinen Versuchen eine Lösung verwendet hatte, welche auf 1 Vol. Glyzerinextrakt aus Schweinemagen 3 Vol. Salzsäure von der Konzentration 3 pro Mille enthielt.²⁾

Da eine weitere Prüfung des Verhaltens der Tritonspermatozoen gegen Pepsinlösung wünschenswert war, habe ich³⁾ sie unter Benutzung einer nach den Vorschriften von Klug⁴⁾ aus Hundemagen hergestellten Lösung (0,01 Pepsin, 5 ccm $\frac{1}{1}$ n. HCl, H₂O ad 100 ccm) vorgenommen.

Die Resultate der Prüfung sind für die folgenden Erörterungen von Wichtigkeit und sollen daher hier in extenso reproduziert werden:

Untersucht man frisch in Alkohol absolutus eingelegte Spermatozoen von *Triton taeniatum* in Alkohol mit Zeiß' Apochromat 2,0 mm, 1,40 Apert., Kompensationsokular 6, so zeigt die Substanz von Schwanz, Mittelstück und Kopf ein gleichartiges Aussehen, nur wird der Kopf

¹⁾ Heine, Die Mikrochemie der Mitose, zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden. (Ztschr. f. physiol. Chem., 1896.)

²⁾ Vgl. den Abschnitt über Nukleoproteide, p. 80.

³⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1898, p. 188.)

⁴⁾ Klug, Untersuchungen über Pepsinverdauung. (Pflüger's Archiv, Bd. 60, 1895.)

von einer sehr feinen Linie abweichenden Aussehens durchzogen. Wesentliche Unterschiede zeigen sich nach der Behandlung mit künstlichem Magensaft. Spermatozoen von *Triton taeniatus* gelangten nach Behandlung mit Alkohol in Verdauungsflüssigkeit. Gleichzeitig wurde in ein besonderes, mit derselben Flüssigkeit beschicktes Gefäß Hühnereiweiß (Alkoholmaterial) eingetragen. Nachdem die Verdauungsflüssigkeit zunächst 5 Stunden bei 36—42° C und dann weitere 17 Stunden bei Zimmertemperatur eingewirkt hatte, wurde untersucht. Das Eiweiß war gelöst, die Spermatozoenköpfe waren glatt konturiert, lebhaft glänzend, von ausgelaugtem Aussehen keine Spur. Die Kopfspitzen und Schwänze hingegen erschienen sehr blaß und zart, im schärfsten Gegensatz zu den Köpfen. Das Mittelstück war nicht mehr zu erkennen. Bei der Untersuchung mit Zeiß' Apochromat sah man eine feine, den Kopf der Länge nach durchziehende Linie. Es scheint hier wie beim Lachs im Kopfe ein innerer Teil von besonderer Beschaffenheit vorhanden zu sein. Eine feine Membran, welche die äußere Hülle des nunmehr verschwundenen Mittelstücks gebildet hatte, verband die Kopfbasis mit dem Schwanze. Auf Zusatz von Alkohol wurde das Mittelstück nicht wieder sichtbar.

Ein weiterer Verdauungsversuch wurde wie folgt ausgeführt: Hühnereiweiß (Alkoholmaterial) und mit Alkohol behandelte Tritonspermatozoen gelangten gleichzeitig in Verdauungsflüssigkeit, nachdem die Spermatozoen mit einer feinen Schere zerschnitten worden waren, um eine möglichst innige Berührung des Kopfinnern mit der Verdauungsflüssigkeit zu erzielen. Ferner wurden mit Alkohol behandelte Tritonspermatozoen in zwei verschiedene Gefäße mit Salzsäure von der Konzentration 0,28 Proz. eingelegt, von welchen das eine bei Zimmertemperatur stehen blieb, während das andere mit samt den Gefäßen, welche die in Verdauungsflüssigkeit liegenden Objekte enthielten, 9 Stunden lang auf 37—42° C erwärmt wurde. Nachdem die Gefäße weitere 15 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten, wurde untersucht. Das Eiweiß war gelöst. Die zerschnittenen, mit Verdauungsflüssigkeit behandelten Köpfe zeigten bei der Untersuchung in der Flüssigkeit mit Zeiß' Apochromat durchaus dieselbe Beschaffenheit, wie die intakten Köpfe nach dem weiter oben beschriebenen Verdauungsversuch. Das mit Verdauungsflüssigkeit und das lediglich mit Salzsäure (Konzentration 0,28 Proz.) in der Wärme und bei Zimmertemperatur behandelte Sperma wurde schließlich in Alkohol eingelegt.¹⁾ Bei der Untersuchung in Alkohol erschien

¹⁾ Die Prüfung der zur Verdauung benutzten Flüssigkeiten auf ihre Wirksamkeit durch Fibrin (Alkoholmaterial) ergab nun, daß Fibrinflocken nach sechsstündigem Verweilen in den Flüssigkeiten bei 39—41° C gelöst waren. Gleich lange bei gleicher Temperatur mit Salzsäure von der Konzentration 0,28 Proz. behandelte Fibrinflocken waren lediglich gequollen.

das Mittelstück der mit Salzsäure behandelten Spermatozoen deutlich als solider Körper, während in den mit Verdauungsflüssigkeit behandelten Spermatozoen vom Mittelstück nur die zarte Umhüllungs-membran zu erkennen war. Auf Zusatz von Methylenblau-Fuchsin S ¹⁾ zu den mit Salzsäure behandelten Spermaportionen färbten sich Schwanz, Kopfspitze und Mittelstück sofort rot, besonders intensiv das letztere. Der Kopf blieb zunächst farblos, um dann schöne blaue Färbung anzunehmen. In dem mit Verdauungsflüssigkeit behandelten Sperma färbte Methylenblau-Fuchsin S den Kopf zunächst rot, derselbe nahm dann jedoch alsbald blaue Färbung an.

Spermatozoen, welche frisch in Salzsäure von der Konzentration 0,28 Proz. eingetragen worden waren, besaßen nach 20stündigem Verweilen in der Säure sehr stark glänzende, scharf konturierte Köpfe; zu diesen standen die Kopfspitzen, Mittelstücke und Schwänze durch ihr blasses, glanzloses Aussehen im deutlichsten Gegensatz.

Methylenblau-Fuchsin S-Lösung färbte an Spermatozoen, welche vorher frisch auf 3 Stunden in Salzsäure von der Konzentration 0,28 Proz. eingelegt worden waren, die Köpfe rein himmelblau, die übrigen Formbestandteile rot und zwar das Mittelstück besonders intensiv.

Die Befunde bestätigen und ergänzen den Mitteilungen Heine's gegenüber meine früheren Angaben, welchen sich noch weiter folgende anschließen:

In Alkohol aufbewahrte Spermatozoen von *Triton taeniatum* gelangten auf 2 Tage in 0,28proz. Salzsäure und darauf in Fuchsin S-Lösung. Sofort färbten sich Kopfspitze, Mittelstück und Schwanz rot. Der Kopf blieb farblos. In Methylenblau färbte sich an den mit Salzsäure behandelten Spermatozoen der Kopf sofort intensiv; Kopfspitze, Mittelstück und Schwanz blieben farblos, um später hellblaue Färbung anzunehmen.

Die benutzten Farblösungen waren durch Eintragen von 0,25 g Farbstoff in 250 ccm destillierten Wassers hergestellt worden.²⁾

Nach der Einwirkung von Glaubersalz-Fuchsin S-Lösung ³⁾ zeigte Sperma von *Triton taeniatum* (Alkoholmaterial) sehr scharf konturierte, durchaus ungequollene Schwänze, Kopfspitzen und Mittelstücke. Letztere waren besonders intensiv gefärbt. Der Kopf war gequollen und sehr schwach gefärbt. Man erhielt den Eindruck, als sei er von einer

¹⁾ Vgl. E. Zacharias, Über Chromatophilie und die hier zitierten Untersuchungen Auerbach's. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch., 1893.)

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (S.-A. aus Bd. XVI der Abhandl. des naturw. Vereins Hamburg, 1900, p. 45.)

³⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Ber. d. deutschen botan. Gesellsch., 1901, p. 379.)

zarten, stärker gefärbten Hülle umgeben.¹⁾ Möglicherweise war das Innere des Kopfes gar nicht gefärbt, der Eindruck einer schwachen Färbung desselben nur durch das Vorhandensein einer zarten, gefärbten Hüllhaut bedingt. Entsprechende Beobachtungen hinsichtlich der Einwirkung von Glaubersalzlösung auf die Spermatozoen von *Salamandra maculosa* sind von Neumann²⁾ mitgeteilt worden.

Für die Spermatozoen von *Anodonta cellensis* fand Carnoy³⁾, daß der Kopf durch Methylgrün gefärbt wird und daß eine Behandlung mit NH_3 oder Na_2HPO_4 den Kopf auf eine dünne Membran und ein zartes plasmatisches Reticulum reduziert, während der Schwanz und die „collerette“ keine Veränderung erfahren. Dieselben Erscheinungen beobachtete Carnoy bei den Spermatozoen von *Toxopneustes lividus*.

Über mikrochemische Untersuchungen pflanzlicher Spermatozoen ist bereits p. 151 berichtet worden. Später sind die Resultate dieser Untersuchungen von Belajeff⁴⁾, Strasburger⁵⁾ und mir⁶⁾ in einigen Punkten ergänzt und berichtigt worden: Nach Belajeff stellt der Blepharoblast von Characeen ein fadenförmiges Gebilde dar, welches in dem Vorderende des Spermatozoenbandes liegt und, nach den Abbildungen Belajeff's zu schließen, die Hauptmasse des Vorderendes bildet. Wie Belajeff mitteilt, werden durch künstlichen Magensaft die Cilien gelöst, während das Vorderende des Schraubenbandes feinkörnige Beschaffenheit annimmt; daß es dabei eine Einbuße an Substanz erleidet, welche auf eine Herauslösung des Blepharoblastenfadens zurückzuführen ist, scheint aus Fig. 40 hervorzugehen.

Ich habe seinerzeit (Über die Spermatozoiden, 1881) das „zarte, substanzarme Residium“, welches nach der Behandlung der Spermatozoen mit künstlichem Magensaft am Vorderende des glänzenden, scharf konturierten Teiles des Schraubenbandes zurückbleibt, für einen Cilienrest gehalten.

¹⁾ Vgl. E. Zacharias, Über die Spermatozoiden. (Bot. Ztg., 1881, p. 833, 834.) Über Chromatophilie. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch., 1893.) — Auerbach, Spermatologische Mitteilungen. (Jahresbericht der schlesischen Gesellsch. für vaterländische Kultur, Sitzg. vom 1. März 1894.)

²⁾ E. Neumann, Eine Notiz über Trockenpräparate von Spermatozoen. (Virchow's Archiv für pathol. Anat. und Physiologie und für klinische Medizin, Bd. 159, Heft 1, 9. Juni 1900.) Einige mikrochemische Angaben über die Spermatozoen des Axolotls finden sich bei Koltzoff (Über das Skelett des tierischen Spermiums. Biolog. Centralblatt, Bd. 26, 1906, p. 854.)

³⁾ Carnoy, Biologie Cellulaire, 1884, p. 225.

⁴⁾ Belajeff, Über die Spermatogenese bei den Schachtelhalmen. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch., 1897.) Über die Ähnlichkeit einiger Erscheinungen in der Spermatogenese der Tiere und Pflanzen. (Ebenda.)

⁵⁾ Strasburger, Histologische Beiträge, IV p. 113, 1892.

⁶⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch., 1901.)

Konzentrierte, rauchende Salzsäure, welche auf Spermatozoen nach ihrer Fixierung durch Osmiumsäuredämpfe oder absoluten Alkohol einwirkt, verändert nach Strasburger auch nach längerer Zeit den vorderen Abschnitt der Spermatozoen meist gar nicht. In Jodjodkalium bleiben die vorderen Abschnitte samt Cilien nach Strasburger völlig unverändert, während die hinteren Abschnitte sowie die den Zellkern führenden mittleren Teile verquollen und körnig erscheinen.

Spermatozoen von *Nitella* behandelte ich mit Fuchsin S-haltiger Glaubersalzlösung (10 g Glaubersalz „pro analysi“ von Merck und 1 g Eisessig auf 100 g Wasser): Die Cilien, das Vorderende des Schraubenbandes lebend in die Lösung eingetragener Spermatozoen, sowie das Hinterende des Schraubenbandes blieben ungequollen und färbten sich, besonders intensiv das nach rückwärts scharf abgesetzte Vorderende. Der mittlere Teil des Schraubenbandes quoll stark an, ohne sich zu färben, während eine feine, nicht quellende, gefärbte Hüllhaut kenntlich wurde. Der quellende Teil des Schraubenbandes schien schließlich gelöst zu werden, die Hüllhaut sank indessen faltig zusammen. Die Spermatozoen von *Chara* verhielten sich wie diejenigen von *Nitella*.

Das mikrochemische Verhalten der Schraubenbänder von Farnen und von *Marsilia* schien mir auf Grund meiner früheren Untersuchungen (l. c. 1881) dem Verhalten der Köpfe des Stierspermas zu entsprechen. Nach Carnoy's Vorgang (*Biologie Cellulaire*, 1884, p. 226) habe ich dann aber 1885 (*Über den Nucleolus*, Botan. Ztg., p. 290, Anm. 1) diese Annahme als irrtümlich bezeichnet. Die Farnspermatozoen enthalten innerhalb einer relativ dicken Hülle von abweichender Beschaffenheit (welche die früheren irrtümlichen Angaben veranlaßte) ein Band, das sich in seinen Reaktionen an die entsprechenden Teile der Characeenspermatozoen anschließt. Wahrscheinlich liegen bei *Marsilia* die Verhältnisse ebenso. Eine ausreichende Nachprüfung meiner älteren Angaben hat jedoch noch nicht stattgefunden. Für die Farne konnte ich folgende Reaktionen feststellen¹⁾:

In fuchsinhaltiger Glaubersalzlösung quoll bei *Ceratopteris thalictroides* der innere Teil des Schraubenbandes lebender Spermatozoen, ohne sich zu färben (er schien gelöst zu werden), während eine sehr scharf begrenzte, schließlich intensiv gefärbte Hülle in die Erscheinung trat. Die Cilien quollen nicht und färbten sich gut. — Umgekehrt ließ sich bei *Pteris* nach Behandlung von Alkoholmaterial mit neutraler, ammoniakalischer Karminlösung eine glänzende, un-

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen. (Botan. Ztg., 1887, p. 354.) — Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Ber. d. deutschen botan. Gesellsch., 1901, p. 379.)

gefärbte Hülle von einer inneren, hellrot gefärbten Partie unterscheiden.

Als lebende Spermatozoen von *Pteris* in 0,28proz. Salzsäure gelangten, verquollen die Cilien, während vom Schraubenbande ein inneres Band von sehr geringer Dicke sichtbar blieb. Auf Zusatz von konzentrierterer Salzsäure (1 Vol. HCl pur., spec. Gew. 1,19 von Merck + 1 Vol. Wasser) verblaßte das glänzende Band langsam, die Cilien traten wieder scharf hervor, und nach 24stündiger Einwirkung der Säure blieb von dem gesamten Schraubenbande ein sehr zarter, geschrumpfter, nicht gequollen aussehender Rest zurück, der beim Auswaschen mit 0,28proz. Säure etwas verblaßte. In ihm glaube ich die Hülle des durch die konzentrierte Salzsäure zerstörten glänzenden Bandes erkannt zu haben.

Strasburger¹⁾ hat auf das mit absolutem Alkohol fixierte Material von Osmundaprothallien konzentrierte, rauchende Salzsäure einwirken lassen, und die besondere Widerstandsfähigkeit des vorderen Körperabschnitts der Spermatozoiden konstatiert. Derselbe bleibt unverändert, während der den Zellkern führende Teil deutlich aufquillt. „An diesem Abschnitt tritt die Oberfläche durch stärkere Lichtbrechung hervor. Diese in solcher Weise sich zeichnende periphere Schicht dürfte demjenigen Plasmarest entsprechen, dessen Vorhandensein auch Zacharias an Spermatozoiden angibt. Es läßt sich annehmen, daß die Kernsubstanz aus diesem Abschnitt durch die konzentrierte Salzsäure herausgelöst wird.“

An Spermatozoen von *Pteris*, welche ich mit verdünnter Salzsäure vorbehandelt hatte, färbte sich auf Zusatz von Methylenblau-Fuchsin S (Gemisch von Lösungen der Farbstoffe zu gleichen Teilen, die Lösungen wurden durch Eintragen von 0,25 g Farbstoff in 250 ccm destillierten Wassers hergestellt) derjenige Teil des Schraubenbandes, der in der Säure ein glänzendes, scharf konturiertes Aussehen erhalten hatte, blau; die stark verwirrte Cilienmasse wurde rot und verdeckte das Verhalten der Hülle.

In künstlichem Magensaft erhält das Schraubenband dasselbe Aussehen wie in verdünnter Salzsäure. Sein innerer, glänzender Teil quoll dann in 10proz. Kochsalzlösung langsam, während die Hülle hervortrat. Auch an lebenden Spermatozoen quoll auf Zusatz von 10proz. Kochsalzlösung der innere Teil des Schraubenbandes, während die Hülle scharf hervortrat.

Nach Einwirkung von Fuchsin S-haltiger Glaubersalzlösung zeigten lebende Spermatozoen von *Pellia epiphylla* starke Quellung des Schraubenbandes, während die Cilien durchaus ungequollen erhalten blieben und gefärbt wurden. Bei *Polytrichum* färbten sich die Cilien lebender

¹⁾ Strasburger, Histologische Beiträge, Heft IV, 1892, p. 119.

Spermatozoen und blieben in ihrer Gestaltung vortrefflich erhalten. Im Schraubenbande schien sich ein ungefärbter centraler Teil von einer gefärbten Hülle zu sondern, doch ist das Objekt zu klein, um eine sichere Feststellung der Tatsachen zu gestatten. Dasselbe gilt von den Schraubenbändern von *Marchantia polymorpha*. Auch hier färbten sich die Cilien gut und blieben unverändert erhalten.

An Spermatozoen von *Polytrichum*, welche in Alkohol aufbewahrt worden waren, erschien nach Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure das Schraubenband als ungemein dünnes, glänzendes Gebilde. Die Einwirkung derselben Säure auf lebende Spermatozoen von *Marchantia polymorpha* entsprach der früher (1881 l. c.) von mir geschilderten Wirkung von Pepsinlösung auf das Sperma von *Fegatella conica*. Nach ruckweiser Quellung restierte ein kleines, glänzendes, vielfach stabförmiges Körperchen, welchem die gequollenen Cilien ansaßen.

In den Pollenschläuchen von *Lilium candidum* zeigten sich bei der Untersuchung in künstlichem Magensaft langgestreckte, schmale generative Kerne von glänzendem Aussehen und sehr dichter Beschaffenheit, den bandförmig gestreckten Kernen von Farnspermatozoen vergleichbar.¹⁾

Fassen wir nun die Ergebnisse der mikrochemischen Untersuchung der an das Lachssperma sich anschließenden Spermatozoen zusammen: Bei Triton und Salamandra unterscheiden sich durch differente Reaktionen Kopfspitze und zarte Hüllhaut von der Hauptmasse des Kopfes. Diese entspricht der Hauptmasse des Kopfes beim Lachs, welche von Miescher mit dem zu Mißverständnissen führenden, wenig bezeichnenden Namen „Hülle“ belegt worden ist. Auch beim Lachs umkleidet eine zarte Hüllhaut diese Hauptmasse. Letztere stimmt, abgesehen von einigen geringfügigen Differenzen hinsichtlich der Quellungsgrade, mit derjenigen von Triton überein in ihrem Verhalten gegen verdünnte und konzentriertere Salzsäure, Essigsäure, verdünnte Kochsalzlösung, Sodalösung, Kalilauge, Verdauungsflüssigkeit, Fuchsin S-haltige Glaubersalzlösung und Fuchsin S-Methylenblaumischung. Dasselbe gilt, soweit untersucht, von der Innenmasse der Schraubenbänder pflanzlicher Spermatozoiden. Alle anderen Formbestandteile der untersuchten Samenfäden zeigen ein abweichendes Verhalten, sie sind im Gegensatz zu den oben genannten zum Teil vollständig löslich in künstlichem Magensaft, unlöslich und unquellbar in konzentrierterer Salzsäure, Kochsalz- und Glaubersalzlösungen der angegebenen Konzentration. Auch hinsichtlich ihrer Färbung in Fuchsin S-Methylenblaumischung zeigen sie sich gemeinsam charak-

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge usw. (Botan. Ztg., 1887, S.-A. p. 23.)

teristisch verschieden von den inneren Teilen der Köpfe und Schraubenbänder. Deren Substanz ist im wesentlichen auf das Chromatin von Zellkernen zurückzuführen und auf Grund der Gesamtheit der vorstehenden Darlegungen einer Gruppe von Nukleinsäureverbindungen beizuzählen, welche verschieden ist von den Nukleinsäureverbindungen der Säugerspermatozoen.

Hinsichtlich der Chemie der Spermatozoenschwänze betont Burian (1906, p. 816), daß mit Alkoholäther extrahierbare, „fettartige“ Substanzen ausschließlich ihnen, nicht den Köpfen angehören. „Vermutlich liegt ein ganz allgemeines Gesetz zugrunde, daß sich in die Worte kleiden läßt: Das Fett und die fettartigen Stoffe sind stets Bestandteile des Cytoplasmas, nicht des Zellkerns.“

Schon bei meinen Untersuchungen über den Nucleolus¹⁾ war mir an Gewebestücken aus der Fruchtknotenwand von *Galanthus nivalis*, welche in 10proz. Kochsalzlösung untersucht wurden, aufgefallen, daß das Zellplasma von sehr zahlreichen glänzenden Tröpfchen verschiedener Größe durchsetzt war, während der Kern frei davon war. Gelegentlich späterer Untersuchungen²⁾ konnte ich weder im ruhenden Kern, noch dann, wenn der Kern in bestimmten Teilungsstadien seine membranartige Abgrenzung verliert, in näher geprüften Fällen „Fetttröpfchen“ im Kernraume nachweisen, während solche im umgebenden Protoplasma reichlich vorhanden waren. Untersucht wurden: Pollenmutterzellen von *Lilium tigrinum*, *Funkia lancifolia*, *Tradescantia pilosa*, Haare von *Cucurbita spec.*, und zwar die Pollenmutterzellen frisch in der Antherenflüssigkeit, in Hühnereiweiß oder Wasser, die Cucurbitahaare lebend in Wasser. Ob alle wie Fetttröpfchen aussehenden Gebilde, welche hier in Betracht kommen, tatsächlich aus Fett bestehen, ist selbstverständlich nicht sicher. Bei *Lilium tigrinum* sind sie in Wasser unlöslich, in Alkohol und Äther löslich. Nach mehrtägigem Liegen der Pollenmutterzellen in Alkohol sind bei der Untersuchung in Wasser keine Tröpfchen mehr wahrzunehmen. Eisessig (spec. Gew. 1,057) veränderte bei kurze Zeit andauernder Einwirkung auf frische Pollenmutterzellen unter Deckglas die Tröpfchen nicht. Wurde aber frisches Material auf 24 Stunden in ein Gefäß mit Eisessig eingelegt und dann untersucht, so traten in den Kernen die Chromatinkörper sehr scharf und glänzend hervor, während im stark gequollenen Zellplasma keine Spur von Tröpfchen zu erkennen war. Beim Auswaschen des Präparates mit Wasser ging die Quellung des Zellplasmas zurück, zahlreiche „Vakuolen“ wurden in demselben sichtbar, welche nach Größe und Anordnung für die früher von den

¹⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Botan. Ztg., 1885, p. 264.)

²⁾ E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895, Ergänzungsband, Bd. 81 p. 250.)

Tröpfchen eingenommenen Räume angesehen werden konnten.¹⁾ Während der Kern sich im Spindelstadium befand, beobachtete ich die Tröpfchen nicht mehr wie im Zustande der Kernruhe einzeln dem Zellplasma eingelagert, sondern zu einer größeren Anzahl von unregelmäßig gestalteten Tröpfchenaggregaten vereinigt. Durch Erwärmen in Wasser unter Deckglas konnte ein Verschmelzen der Tröpfchen jedes Aggregates zu einem größeren Tropfen herbeigeführt werden.

Auch in befruchtungsreifen Eiern von *Marchantia polymorpha*, welche lebend auf 24 Stunden in 0,28proz. Salzsäure eingetragen worden waren, sah man, als sie in der Säure untersucht wurden, im Plasma Aggregate mehr oder weniger miteinander verschmolzener Tröpfchen von fettähnlichem Aussehen, nicht aber im Kern.²⁾

„Nach der Behandlung von frischen Zellen mit künstlichem Magensaft fiel es mir mehrfach auf, daß zahlreiche Tröpfchen von fettartigem Aussehen aus dem Zellplasma ausgetreten waren, und zwar schien bei *Arum italicum* (Blattepidermis) diese „Fett“-Ausscheidung nach Einwirkung der aus Schweinemagen hergestellten Verdauungsflüssigkeit reichlicher auszufallen, als nach der Behandlung mit der aus Hundemagen hergestellten.“³⁾

Es mag darauf hingewiesen werden, daß Öltropfen im Protoplasma von Samen nach Tschirch⁴⁾ „erst bei der Behandlung mit Wasser oder Reagenzien hervortreten“. „Ob dieses Ölplasma (sagt Tschirch) nicht sogar hier wie anderwärts eine schon durch Wasser zerstörbare chemische Verbindung repräsentiert, bleibt zu untersuchen.“

Nach der Behandlung von frischen Schnitten aus Weizenembryonen mit Verdauungsflüssigkeit bei 40° C fand ich an der Peripherie des Plasmas große „Fett“-Tropfen, welche beim Auswaschen mit absolutem Alkohol verschwanden. An und im Kern wurden derartige Tropfen nicht sichtbar.

Es sollen nun weiter die mikrochemischen Untersuchungen somatischer Pflanzenzellen zusammengestellt und deren Resultate mit den im vorstehenden mitgeteilten kombiniert werden. Anzuknüpfen ist hier an die im Eingang dieses Abschnittes behandelten Arbeiten.

¹⁾ Hinsichtlich der Beurteilung dieser Reaktionen vgl. Arthur Meyer, Das Chlorophyllkorn. Leipzig 1883, p. 27.

²⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1901, p. 393.)

³⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1898, p. 191, Anm. 3.)

⁴⁾ Tschirch und Oesterle, Anatomischer Atlas der Pharmakognosie und Nahrungsmittelkunde. 1. Abtl., Leipzig 1895, p. 152. Auf die Literatur des Gegenstandes soll hier nicht weiter eingegangen werden.

Eingehend habe ich die Zellen der Knollen und Wurzeln von Phajus untersucht, da diese sich wegen des Baues und der Größe ihrer Zellkerne besonders für derartige Untersuchungen eignen.

In lebenden Kernen der Knollen erkennt man zahlreiche größere und kleinere, annähernd kugelige, homogene Körper, vor welchen sich die Nukleolen nur wenig durch erheblichere Größe und etwas schärfere Begrenzung auszeichnen.

Werden frische Kerne mit 0,1 proz. Salzsäure behandelt, so quellen die Nukleolen, während die anderen „Körper“ sehr scharf hervortreten. Sie erfüllen das Innere des Kernes und sind einer Substanz eingebettet, die sich in ihrem Aussehen nicht von der den Kern umgebenden Flüssigkeit unterscheidet. Dort, wo sich die Nukleolen befanden, sind schließlich kugelige Räume von demselben Aussehen vorhanden. In der Peripherie des Kernes bilden dicht gelagerte „Körper“ eine membranähnliche Schicht. Außerhalb derselben erkennt man nur mit Mühe die etwas gequollene Kerntasche, in welche die protoplasmatischen Suspensionsfäden übergehen (l. c. 1882, p. 653).

Neuerdings habe ich die Wirkung verdünnter Salzsäure auf die Phajuskkerne mit besseren optischen Hilfsmitteln¹⁾, als sie mir seinerzeit zur Verfügung standen, nachgeprüft. Frische Schnitte aus der Knolle kamen zur Beobachtung, nachdem 2 prom. HCl 48 Stunden auf sie eingewirkt hatte. Die Nukleolen waren stark gequollen. Übrigens wurde am Kern eine Substanz von stark glänzendem Aussehen in folgender Gestaltung und Anordnung erkannt: 1. Mehr oder weniger der Kugelform sich anschließende größere Körper, welche zum Teil vakuolige Struktur besaßen, zum Teil im optischen Durchschnitt ringförmig erschienen, dem Bilde entsprechend, welches die Centalkörner der Cyanophyceen häufig nach der Behandlung mit verdünnter HCl darbieten.²⁾ Eine Zusammensetzung der größeren Körper aus kleineren Körnchen war nicht zu erkennen. 2. Kleinere, zum Teil äußerst kleine glänzende Körnchen, die besonders an der Kernperipherie dicht gelagert waren. Dafür, daß es sich hier etwa um optische Durchschnitte, feiner Balken eines Gerüstes handele, sprach die Beobachtung nicht. In manchen Kernen war außer diesen Dingen keine geformte Substanz zu erkennen, in manchen sah man aber ferner bälkchenartige Gebilde, zum Teil als Fortsätze der größeren Körper, sie hatten dasselbe glänzende Aussehen wie jene. Ein Aufbau der Bälkchen aus kleinen Körnchen ließ sich nicht feststellen. Die glänzende Substanz entspricht dem Chromatin der Autoren. Um Aufschluß über das Verhalten dieser Substanz zu verschiedenen Reagenzien zu er-

¹⁾ Zeiß, Apochr., 2 mm, Compens ocul., No. 6.

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (S.-A. aus Bd. XVI der Abh. des naturw. Vereins Hamburg, 1900, p. 27.)

langen, ist es zweckmäßig, das Verhalten der größeren Körper während der Einwirkung der Reagenzien zu beobachten.

Sie färben sich, ohne zu quellen, stark mit Essigkarmin nach Schneider, wenn der Farbstoff auf frisches Material einwirkt, während die Nukleolen quellen, ohne sich zu färben. Bei vorsichtiger Behandlung von Alkoholmaterial mit Methylgrün wurden nur die Chromatinkörper gefärbt (1882, p. 654).

Ein Gemisch von 1 g Eisessig und 100 g Wasser wirkt auf Nukleolen und Chromatinkörper frischer Schnitte nicht merklich quellend ein, beide erhalten indessen kein glänzendes Aussehen.

Bei der Einwirkung konzentrierterer Salzsäure¹⁾ auf Präparate, die vorher mit stark verdünnter Salzsäure behandelt worden waren, „quellen die Chromatinkörper langsam, der Kern wird fast homogen und ist nun von einer glatten, doppelkonturierten Membran umgeben, welche dieselbe Lichtbrechung wie die Plasmateile der Zelle zeigt. Nach einiger Zeit erkennt man im Kern ein Netzwerk, welches die Nucleoli enthält. Die Chromatinkörper sind verschwunden“. Als ich später frische Schnitte mit einer Salzsäure von der Konzentration 4 Vol. Acid. hydrochlor. pur. 1,19 von Merck + 3 Vol. H₂O behandelt hatte, waren nach 24 Stunden in den Zellen wohl noch beträchtliche Plasmareste vorhanden, vom Kern wurden aber nur noch in einzelnen Fällen undeutliche Reste erkannt, und zwar sowohl bei unmittelbarer Untersuchung in der Säure, als auch nach dem Auswaschen mit absolutem Alkohol und Färbung mit Jodjodkalium oder nach dem Auswaschen mit Wasser und Färbung mit Essigkarmin, Glaubersalz-Fuchsin S-Essigmischung²⁾ oder Jodjodkalium.

Über die Einwirkung destillierten Wassers auf frische Schnitte wurde folgendes ermittelt: Nach einiger Zeit werden die Kerne homogen. Man erkennt nur noch scharf die Nucleoli, welche kleine Vakuolen enthalten. Nun schwillt der Kern an und erscheint von einer scharf doppelkonturierten Membran umgeben. Diese platzt schließlich, wobei häufig die Nucleoli ausgestoßen werden, ohne weitere Veränderungen zu erfahren. Setzt man darauf 0,1proz. Salzsäure hinzu, so quellen die Nucleoli, während innerhalb der geplatzen Membran des Kernes wieder Inhaltsbestandteile sichtbar werden, deren Konfiguration jedoch undeutlich bleibt. Die früheren Formverhältnisse werden nicht wieder hergestellt (1882).

Behandelt man Kerne, welche infolge der Einwirkung von destilliertem Wasser geplatzt, deren Nukleolen ausgetreten sind, nach einiger Zeit mit Essigkarmin, so sieht man, daß die Nukleolen noch

¹⁾ 1882, p. 653. Den Konzentrationsgrad der Säure habe ich leider nicht angegeben.

²⁾ Vgl. p. 163, 164.

in der gequollenen Kernmasse liegen, nicht etwa frei in der Flüssigkeit des Präparates. Im Essigkarmin quellen die Nukleolen, ohne sich zunächst zu färben, während die Quellung der sonstigen Kernmasse zurückgeht. Dabei färbt sie sich, ohne indessen die frühere Konfiguration anzunehmen. Als ich frische Schnitte aus Phajusknollen, nachdem sie 24 Stunden in destilliertem Wasser gelegen hatten, untersuchte, waren die teilweise ausgetretenen Nukleolen der geplatzten Kerne scharf konturiert und glänzend. Im Kern waren nicht gequollene, gerüstartige Gebilde zu erkennen. Mit diesen stimmte das Zellplasma im Aussehen annähernd überein. Um zu entscheiden, ob durch das Wasser eine Lösung bestimmter Bestandteile des Kernes erfolgt sei, wurden die Schnitte teils mit verdünnter Salzsäure, teils mit Alkohol und teils mit Essigkarmin behandelt.

Nach 24stündiger Einwirkung von Alk. abs. erschienen die Nukleolen scharf umschrieben und glänzend, der Kern enthielt übrigens fein granulierte Substanz. Auf Zusatz von 2prom. HCl quoll nun der Nucleolus stark auf, das Zellplasma blieb ungequollen und auch im Kern zeigte sich ein ungequollenes sehr zartes Gerüst, in welchem man die Umgrenzung der für die Phajuskkerne charakteristischen größeren Chromatinkörper erkannte, nicht aber diese selbst. Auch als die mit Wasser behandelten Schnitte direkt in 2prom. HCl eingebracht wurden, verquollen die Nukleolen sofort, während im Kern das Gerüst an Deutlichkeit gewann, fein granuliert und glänzend wurde. Das Zellplasma blieb etwas blasser, die „Chromatinklumpen“ zeigten sich nicht.

Eine Färbung der mit Wasser behandelten Schnitte durch Essigkarmin erfolgte durch Eintragen derselben auf 24 Stunden in die Farblösung. Die überfärbten Schnitte wurden darauf mit verdünnter Essigsäure ausgewaschen und dann successive in Alkohol, Xylol und Kanadabalsam übertragen: Die Nukleolen waren stark gefärbt, auch Plasma und Kerngerüste waren gefärbt, zeigten aber keinerlei intensiv gefärbte, scharf umschriebene Teile, wohl aber ungefärbte Stellen, welche möglicherweise den Chromatinklumpen entsprachen.

Es ist demnach anzunehmen, daß jedenfalls das Chromatin durch Wasser stark verändert, vielleicht auch gelöst werden kann.

„Wurde zu frischen Schnitten aus der Knolle 10proz. Kochsalzlösung hinzugefügt, so verquollen die größeren Chromatinkörper sofort, während die Nucleoli unverändert blieben, gleichzeitig wurde eine stark lichtbrechende, doppeltkonturierte Membran sichtbar, welche den Kern umgab. Bei plötzlichem Zutritt der Kochsalzlösung erfolgte die Quellung der Chromatinkörper sehr rasch und intensiv, die Membran (Kerntasche?) platzte, und die Nucleoli samt Teilen der Zwischen-substanz, welche die Räume zwischen den Chromatinkörpern und Nukleolen im Kern ausgefüllt hatte, wurden ausgestoßen. Hatte die

Kochsalzlösung weniger plötzlich eingewirkt, so blieb die Struktur des Kernes selbst nach 40stündigem Liegen des Präparates in der Lösung im wesentlichen erhalten. Die Zwischensubstanz war deutlich geworden und umgab Hohlräume, aus welchen die Chromatinkörper vollständig herausgelöst zu sein schienen. Die Nukleolen hatten sich nicht verändert. Konzentrierte Essigsäure ließ die mit Kochsalz behandelten Kerne zusammenschrumpfen. Dabei wurde ihre Membran undeutlich, die Zwischensubstanz aber und die Nucleoli traten zunächst sehr scharf hervor, um schließlich wieder etwas blasser zu werden. Die Chromatinkörper konnten nicht wieder erkannt werden“ (1882, p. 654).

Die Einwirkung von Glaubersalz wurde eingehender studiert, da ich nach Miescher's Vorgang das Verhalten der Spermatozoen gegen eine Mischung von Glaubersalz und Essigsäure eingehender festgestellt hatte, und die Möglichkeit eines Vergleichs erwünscht sein mußte. Verwendet wurden reines Glaubersalz von Merck („pro Analyti“). Nach dem Eintragen frischer Schnitte aus der Knolle in eine Lösung von 10 g Glaubersalz in 100 ccm Wasser quollen und platzten die Kerne, wobei die Nukleolen ohne zu quellen zum Teil austraten. Als dann nach einiger Zeit eine Lösung zugesetzt wurde, welche auf 100 ccm Wasser 10 g Glaubersalz, 1 g Eisessig und etwas Fuchsin S enthielt, wurden die Nukleolen intensiv gefärbt, im Kern zeigte sich ein gefärbtes Gerüst, welches aus dem geplatzten Kerne hervorragte und die ausgetretenen Nukleolen umgab.

Gelangten frische Schnitte in ein Gemisch, welches auf 1 g Eisessig 100 g Wasser enthielt, so waren die Nukleolen und größeren Chromatinkörper kaum voneinander zu unterscheiden, sie waren nicht gequollen, aber glanzlos. Im übrigen enthielt der Kern ein recht scharf hervortretendes, ziemlich engmaschiges Gerüst. Auswaschen mit einer Lösung: Glaubersalz 10 g 100 ccm Wasser ließ nun die Nukleolen sehr scharf hervortreten, desgleichen das Gerüst, es schien engmaschiger und substanzreicher zu werden. Die Chromatinkörper verblaßten, es hatte den Anschein, als ob sie gelöst würden. Durch weiteres Auswaschen mit Salzsäure 2 prom. und Zusatz von Essigkarmin konnten sie jedenfalls nicht wieder sichtbar gemacht werden. Beim Auswaschen mit verdünnter HCl quollen die Nukleolen stark, das Gerüst wurde stark aufgehellt, glänzende Substanz zeigte sich nicht. In Essigkarmin blieben die Nukleolen farblos, das Gerüst wurde gefärbt. An Stelle der Chromatinkörper fanden sich darin farblose Räume, deren Ränder sich allerdings ziemlich scharf abzeichneten, so daß man hier und da an stark ausgedehnte „Ringkörper“ (vgl. weiter oben) denken konnte.

Wurden frische Schnitte zunächst in die Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin S-Lösung gebracht und dann mit Glaubersalz ausgewaschen

(10 g in 100 ccm Wasser), so waren die Nukleolen wohl erhalten, scharf begrenzt und gefärbt. Der Kern enthielt im übrigen ein feinmaschiges Gerüst, mit größeren farblosen Stellen, welche den Chromatinkörpern zu entsprechen schienen.

Beim Auswaschen mit 2prom. Salzsäure quollen die Nukleolen, während keine Chromatinkörper kenntlich wurden und das Gerüst an Deutlichkeit einbüßte.

Die vergleichende Untersuchung von Schnitten, die zum Teil frisch in Salzsäure von 2prom. auf 24 Stunden, zum Teil in die Glaubersalz-Essig-Fuchsinlösung auf dieselbe Zeit eingetragen, und dann wiederholt mit 2prom. HCl abgewaschen worden waren, ergab folgendes, als beiderlei Schnitte in verdünnter Salzsäure betrachtet wurden: Die Kerne waren nicht wesentlich verschieden. Sie enthielten stark gequollene Nukleolen und Gerüste, welche in den nicht mit Glaubersalz behandelten Schnitten die scharf hervortretenden, glänzenden Chromatinkörper zeigten, in den Glaubersalzschnitten solche aber auch; allerdings minder scharf und glänzend erkennen ließen. Nach Färbung mit Essigkarmin erschienen sie hier dann diffuser, weniger scharf gefärbt, als in den lediglich mit verdünnter HCl behandelten Schnitten.

Daß ein wesentlicher Substanzverlust der Kerne durch die Glaubersalzbehandlung herbeigeführt worden war, ließ sich nicht sicher nachweisen, insbesondere nicht, daß „Chromatin“ herausgelöst worden sei.

Schnitte aus der Knolle, welche einige Tage in absolutem Alkohol gelegen hatten, zeigten bei der Untersuchung in Alkohol mit dem Trockensystem 9 von Winkel zwischen den Nukleolen, größeren und kleineren Chromatinkörpern und Gerüstwerken Zwischenräume von etwas bräunlichem Ton. „Bei vorsichtiger Behandlung mit Methylgrün werden in solchen Kernen nur die größeren Chromatinkörper gefärbt“ (1882, p. 654). Färbt man vorsichtig mit Essigkarmin und untersucht in Dammarlack, so sind nur die Chromatinkörper gefärbt. Ungefärbt bleiben die Nukleolen und ein feinmaschiges Netzwerk, welches die gefärbten Teile umgibt (1887, p. 331). Die Einwirkung von Kochsalz, Soda, Kalilauge und konzentrierter Salzsäure auf Alkoholmaterial verlief wie folgt: „10proz. Kochsalzlösung läßt die größeren Chromatinkörper rasch verquellen, während das Netzwerk der Zwischensubstanz sehr deutlich wird und die Nucleoli an Stärke der Lichtbrechung gewinnen. Weder durch Essigsäure noch durch Jodlösung oder Methylgrün konnten in den mit Kochsalz behandelten Kernen die Chromatinkörper wieder deutlich sichtbar gemacht werden. Doch blieb es nach den erhaltenen Bildern unsicher, ob eine vollständige Herauslösung der Körper durch das Kochsalz stattgefunden hatte oder nicht.

Nach mehrtägiger Behandlung mit 10proz. Sodalösung waren Nucleoli und Zwischensubstanz sehr deutlich, die Chromatinkörper

aber nicht mehr sichtbar; auch nach dem Färben mit Methylgrün oder Jod war von ihnen in manchen Kernen nichts zu erkennen, während es in anderen Fällen zweifelhaft blieb, ob noch undeutliche Reste der Chromatinkörper vorhanden seien oder nicht.

Stark verdünnte Kalilauge ließ die Chromatinkörper sofort stark aufquellen und verschwinden, während Nucleoli und Zwischensubstanz zwar blaß wurden, aber sichtbar blieben. Man erkannte eine doppelt-konturierte, den Kern umgebende Membran. Setzte man nach etwa $\frac{3}{4}$ stündiger Einwirkung der Kalilauge konzentrierte Essigsäure hinzu, so schrumpfte der Kern, Nucleoli und Zwischensubstanz wurden sehr scharf. Letztere blieb so, während die Nucleoli nach längerem Verweilen in der Essigsäure wieder blaß wurden. Die Chromatinkörper wurden auch nach Zusatz von Jodlösung nicht wieder sichtbar. Sehr schöne Präparate erhielt man, wenn man die Kalilauge nur so lange wirken ließ, bis die Chromatinkörper verschwunden waren, und dann mit 10 proz. Kochsalzlösung auswusch. Die Zwischensubstanz umgab dann in Gestalt eines sehr zarten Netzwerkes die größeren Lücken, in denen die Chromatinkörper gelegen hatten. Die Nucleoli waren scharf konturiert.

Wurden Schnitte in verdünnter Kalilauge erwärmt, dann mit Wasser ausgewaschen und mit Jodlösung gefärbt, so waren in den Zellen nur noch hier und da körnige gelb gefärbte Reste ohne Zusammenhang wahrzunehmen.

In Schnitten, welche 48 Stunden in konzentrierter Salzsäure gelegen hatten, war durch Jodjodkali kein geformter Inhalt mehr nachzuweisen“ (1882, p. 654, 655).

„Unterwirft man Schnitte aus frischen Wurzeln der Verdauung in künstlichem Magensaft (1 Vol. Glyzerinextrakt aus Schweinemagen auf 3 Vol. Salzsäure von der Konzentration 2 prom.), so werden die Chromatinkörper glänzend und scharf konturiert, während Nucleoli und Zwischensubstanz ein etwas gequollenes, blasses Aussehen erhalten, was auch bei den unverdaulichen Teilen des Protoplasmas der Fall ist. Im Nucleolus zeigen sich Teile verschiedener Lichtbrechung. Extrahiert man die Kerne nach der Verdauung mit absolutem Alkohol, behandelt sie dann vorsichtig mit einer schwach essigsauren Lösung von Methylgrün und untersucht in schwach essigsaurem, stark mit Wasser verdünntem Glyzerin, so bleiben Zwischensubstanz und Nucleoli farblos, die Chromatinkörper aber werden intensiv gefärbt. Sie sind nun unregelmäßig gestaltet, nähern sich aber häufig der Kugelform. Die größeren zeigen eine blasige Beschaffenheit. Manche sind eckig und mit benachbarten durch feine, gefärbte Fortsätze verbunden, andere scheinen hingegen isoliert zu liegen.

Verglichen mit gefärbten verdauten Kernen zeigen gefärbte unverdaute ein bedeutenderes Volumen. Namentlich ist die ungefärbte

Zwischensubstanz viel deutlicher und scheint substanzreicher zu sein, ferner tritt der Nucleolus schärfer hervor und sieht homogener aus. Auch die Chromatinkörper sind homogener und nähern sich mehr der Kugelgestalt. Es scheint durch den Magensaft ein Teil der Substanz des Kernes gelöst zu werden, und zwar scheint diese in Magensaft lösliche Substanz in allen Teilen des Kernes vorhanden zu sein.

Erwähnenswert ist das Verhalten der Chromatinkörper gegen 10proz. Kochsalzlösung. Hat man nämlich frische oder mit Alkohol extrahierte Kerne mit der Lösung behandelt, so gelingt es, wie oben bemerkt wurde, nicht die verquollenen Körper in ihrer früheren Gestalt wieder sichtbar zu machen, was aber sehr gut gelingt, wenn verdautes Material in Kochsalzlösung gelegen hat. Auch dann sind allerdings die Körper verquollen, treten aber auf Zusatz von Essigsäure in der früheren Schärfe wieder hervor“ (1882, p. 656).

Weitere Reaktionen wurden an Schnitten aus der Wurzelrinde ausgeführt, welche zunächst 48 Stunden in absolutem Alkohol gelegen hatten, darauf 24 Stunden bei 30–32° C der Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit (1 Vol. Glycerinextrakt aus Schweinemagen auf 3 Vol. Salzsäure von der Konzentration 3 prom.) ausgesetzt, und endlich wieder in absoluten Alkohol eingelegt worden waren.¹⁾

Destilliertes Wasser bewirkte selbst nach 24-stündiger Einwirkung keine merkliche Quellung der Chromatinkörper. Durch ein Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S wurde zuerst der Plasmarest rot gefärbt, während die Chromatinkörper der Kerne noch farblos blieben, um dann sehr bald eine intensiv blaue Färbung anzunehmen.

In Salzsäure von 0,3 Proz. erschienen die Chromatinkörper glänzend, scharf umschrieben, das Zellplasma blaß und ohne Glanz. Ließ man nun zu dem in verdünnter Salzsäure liegenden Präparat konzentrierte Salzsäure (4:3) hinzutreten, so verloren die Chromatinkörper ihren Glanz und verschwanden langsam, während ein bis zwei blasse glanzlose Körper, Nukleolarreste, kenntlich wurden. Dann trat das Zellplasma schärfer hervor und nach einiger Zeit wurde im Kern ein zartes Gerüstwerk sichtbar. Verdrängte man die konzentriertere Säure wieder durch die verdünntere, so wurden die Chromatinkörper nicht wieder sichtbar. Nach Auswaschen des Präparates mit Alkohol und Zusatz von Methylenblau-Fuchsin S färbten sich Zellplasma und Kernrest sofort rot. In letzterem erkannte man die Nukleolen und ein zartes Netzwerk; von Chromatinkörpern war nichts zu bemerken. Nach längerer Einwirkung von Salzsäure (4:3) erhält man entsprechende Resultate. Ein Schnitt wurde auf 24 Stunden in die Säure eingelegt und darauf in derselben untersucht. Kern und Plasma

¹⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1893, p. 297.)

waren sehr substanzarm geworden, aber ungequollen und von annähernd gleichartigem Aussehen. Im Kern erkannte man die Nukleolarreste und ein zartes Gerüst. Nach dem Auswaschen mit Salzsäure von 0,3 Proz. trat keine Spur der glänzenden Chromatinkörper wieder hervor, im Gegenteil verlor das ganze Bild an Schärfe, namentlich in den Nucleolarresten. Nachdem das Präparat 24 Stunden in der verdünnten Säure gelegen hatte, war keine weitere Veränderung eingetreten. Der Schnitt wurde nun in Wasser vollständig ausgewaschen und darauf mit absolutem Alkohol behandelt. Nach darauf folgender 2stündiger Einwirkung von Methylenblau-Fuchsin S und successiver Übertragung in Alkohol, Xylol und Canadabalsam waren Zellplasma und Kernrest rot gefärbt, am intensivsten die Nucleolarreste.

Kochsalzlösung von 10 Proz. veranlaßte ein Quellen der Chromatinkörper, während Plasma und Nukleolen nicht quollen. Zwischen den gequollenen Chromatinkörpern sah man nicht gequollene, ziemlich stark lichtbrechende Substanz, welche zum Teil zarte Hüllen um die gequollenen Chromatinkörper bildete. Nach 24stündiger Einwirkung der Kochsalzlösung war das Bild unverändert. Auf Zusatz von 0,3proz. Salzsäure ging die Quellung der Chromatinkörper sofort zurück.

Kalilauge (etwa $\frac{1}{2}$ proz.) ließ Kern und Plasma rasch verquellen, dabei verschwanden die Nukleolarreste später als die übrigen Bestandteile des Kernes. Wusch man nach kurzer Zeit mit Salzsäure von 0,3 Proz. aus, so trat vom Kern nichts wieder zutage. Nach der Färbung mit Methylenblau-Fuchsin S sah man dann hier und da noch in den Zellen rot gefärbte Massen, welche ihrer Gestalt nach für Reste von Zellplasma zu halten waren. Nach 24stündigem Verweilen eines Schnittes in der Kalilauge und darauf folgendem Auswaschen mit 0,3proz. Salzsäure war überhaupt kein Zellinhalt durch Färbung mehr nachzuweisen.

In Sodalösung von $\frac{1}{2}$ Proz. verquollen die Chromatinkörper, während die Nukleolarreste, eine zarte, die quellenden Chromatinkörper umgebende Substanz, sowie das Zellplasma scharf hervortraten. Nach einiger Zeit erkannte man im Kern nur noch die Nukleolarreste. Endlich verschwanden und verblaßten auch diese, das Plasma blieb als zarte, faltige Haut kenntlich. Wurde nun mit 0,3proz. Salzsäure ausgewaschen, so traten stark verkleinerte Chromatinkörper mit lebhaftem Glanze wieder hervor, welche nach Auswaschen des Präparates mit Alkohol in Methylenblau-Fuchsin S intensiv blau wurden, während sich das Plasma rot färbte.

Nach 24stündiger Einwirkung von 1proz. Sodalösung waren nur hier und da noch Plasmareste zu erkennen und nach dem Auswaschen mit 0,3proz. Salzsäure wurde vom Kern nichts wieder sichtbar. Es wurde nun mit Alkohol ausgewaschen und mit Methylenblau-Fuchsin S gefärbt, worauf sich in allen Zellen rot gefärbte Plasmareste zeigten,

während sich vom Kern nichts wahrnehmen ließ. Es ist jedoch möglich, daß sich in den roten Plasmaresten gleichartig gefärbte Kernreste der Beobachtung entzogen haben. Erfolgte das Auswaschen der Sodalösung durch verdünnte Salzsäure nach kürzerer Einwirkung der ersteren, so zeigten sich nach der Färbung noch Kerne mit größeren oder kleineren Massen intensiv blau gefärbter Chromatinkörper. Die Nukleolarreste färbten sich hell rötlich.

Auch bereits im Jahre 1887¹⁾ hatte ich die Einwirkung von Sodalösung auf Verdauungsreste geprüft: „Wenn man Schnitte aus der Wurzel von Phajus zunächst 24 Stunden bei 30° C mit Magensaft²⁾ behandelt, dann auf einige Tage in Ätheralkohol legt, hierauf 24 Stunden in Sodalösung von 0,5 Proz., endlich 48 Stunden in absoluten Alkohol, und nun diese Schnitte gleichzeitig mit solchen, welche nicht mit Soda, übrigens aber gleichartig behandelt worden sind, in Alkohol untersucht, so sind in den Sodaschnitten die Abgrenzungen der Kerne nur noch schwierig in den Zellplasmaresten wahrzunehmen; letztere scheinen aber nicht substanzärmer zu sein, als in den nicht mit Soda behandelten Schnitten. Nachträgliche Färbung mit wässriger Jodlösung trägt dazu bei, das geschilderte Verhalten deutlicher hervortreten zu lassen. Ein Zusatz von 0,3proz. Salzsäure läßt in den Kernen der nicht mit Soda behandelten Schnitte die Nukleinkörper scharf hervortreten, während in den Sodaschnitten nichts davon sichtbar wird.“

„Nach der Behandlung der Verdauungsreste mit Soda treten Netzwerkreste im Kern deutlich hervor, wenn die Schnitte nach Einwirkung der Sodalösung in Alkohol gelegt und darauf in 10proz. Kochsalzlösung untersucht werden“ (1887, p. 331).

Im Kern von Phajus wurden demnach in den untersuchten Präparaten unterschieden: 1. Nukleolen. 2. Größere Chromatinklumpen, von denen Balkenwerke ausgehen können. 3. Kleinere Chromatinkörnchen, deren Zusammenhang mit feineren Netzwerken zweifelhaft blieb.

Bei der Lösung oder Quellung der Chromatinkörper restierten Balkenwerke, deren morphologische Beziehungen zu den Chromatinkörpern noch weiterer Untersuchung bedürfen. Sie entsprechen dem, was ich früher (1887, p. 331 u. a. a. O.) Grundmaße, auch wohl Zwischensubstanz genannt habe. Es handelt sich um Substanzen, welche bei der Beobachtung von Reagenzieneinwirkungen auf die größeren Chromatinkörper zwischen diesen mit abweichenden Reaktionen zur Wahrnehmung gelangen. Überblickt man die mikro-

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntn. des Zellkerns und der Sexualzellen. (Botan. Ztg., 1887, p. 286.)

²⁾ 1 Vol. Glycerinextrakt aus Schweinemagen auf 3 Vol. 2prom. Salzsäure

chemischen Reaktionen der Phajuszellen, so fällt zunächst eine bemerkenswerte Übereinstimmung im Verhalten der Chromatinkörper mit den sog. Kopfhüllen der Lachsspermatozoen auf.

Gleichartig ist das Verhalten beider gegen verdünnte Salzsäure, konzentriertere Salzsäure, 10proz. Kochsalzlösung, Methylgrünessigsäure, Glaubersalz, Pepsinsalzsäure, und ebenso verhalten sich die Verdauungsreste gleichartig gegen: konzentriertere Salzsäure, verdünnte Kalilauge, Kochsalzlösung von 10 Proz., Methylenblau-Fuchsin S-Lösung.

Nicht ganz gleichartig ist das Verhalten der Verdauungsreste gegen Sodalösungen bestimmter Konzentration; in diesen lösen sich die Chromatinkörperchen auf, während die Verdauungsreste der Kopfhüllen zwar stark quellen, dann aber auf Zusatz verdünnter Salzsäure die frühere Beschaffenheit wieder annehmen.

Völlig abweichend von den Chromatinkörpern reagieren die Nukleolen, eine außerhalb der Chromatinkörper im Zellkern vorhandene Substanz und das Zellplasma. Nach der Verdauung blieben von diesen Formbestandteilen beträchtliche Reste zurück, welche im Gegensatz zu den Chromatinkörpern in 0,3proz. Salzsäure blaß und glanzlos erschienen, in konzentrierterer Salzsäure nicht verschwanden, sondern scharf hervortraten, in 10proz. Kochsalzlösung nicht quollen und gegen Sodalösungen widerstandsfähiger als die Chromatinkörper waren.

Die durch die geschilderten Reaktionen ausgezeichnete, nach der Verdauung zurückbleibende Substanz der Chromatinkörper habe ich, wie weiter oben ausgeführt wurde, früher als Nuklein oder Kernnuklein bezeichnet, die Verdauungsreste der sonstigen Formbestandteile der Zelle aber Plastin genannt. Bei allen diesen Substanzen dürfte es sich um Verdauungsreste verschiedener Nukleoproteide und Nukleoalbumine handeln, wenn es auch selbstverständlich nicht ausgeschlossen ist, daß hier auch andere unverdauliche Stoffe mit in Betracht kommen könnten.¹⁾ Daß Zellprotoplasma bei der Verdauung unlösliche Nukleintrückstände ergeben kann, zeigen u. a. die Untersuchungen Halliburton's über die roten Blutkörper der Säugetiere (vgl. den Abschnitt „Makrochemische Arbeiten“, p. 85). Jedenfalls ist die Beibehaltung der Namen Kernnuklein und Plastin zunächst zweckmäßig, bis makrochemische Untersuchungen weitere Aufklärung gebracht haben werden.

¹⁾ Neuerdings hat Ruzicka (Zur Kenntnis der Natur und Bedeutung des Plastins, Archiv für Zellforschung, I, 4, Leipzig 1908) das Plastin den Albuminoiden an die Seite stellen wollen. Eine zutreffende kritische Besprechung anderer Publikationen von Ruzicka findet sich bei Némec, Über die Natur des Bakterienprotoplasten. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Jahrg. 1908.)

Im Anschluß an die Untersuchung der Phajuszellen mögen hier einige Untersuchungsergebnisse mitgeteilt werden, welche die Zellen anderer Orchideen betreffen:

Die Kerne in den Luftwurzeln von Vanilla enthalten wie diejenigen von Phajus größere Chromatinkörper, welche bei der Untersuchung in Alkohol einer recht dichten Grundmasse eingebettet zu sein scheinen. Auf Zusatz einer Lösung von 10 g Glaubersalz in 100 ccm Wasser traten Nukleolen und Grundmasse scharf hervor, während die Chromatinkörper unkenntlich wurden.

Auf Zusatz von Essigkarmin zu Alkoholmaterial färbten sich die Chromatinkörper.

Wurden frische Schnitte in 2prom. Salzsäure untersucht, so waren die Nukleolen gequollen, die Chromatinkörper glänzend und scharf begrenzt, meist homogen und solid, einige hatten die Gestalt von Hohlkugeln. Sie waren von sehr verschiedener Größe. Zwischen den größeren Chromatinkörpern und sehr kleinen Körnchen, welche den Kernraum erfüllten, waren Übergänge vorhanden. Nach 24stündiger Einwirkung der Salzsäure war keine weitere Veränderung zu bemerken. Mit Essigkarmin konnten in frischen Schnitten auch die kleinen Körnchen gefärbt werden.

Wirkte nach der Behandlung frischer Schnitte mit 1prom. Salzsäure ein Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S auf dieselben ein, so färbten sich sofort die Kerne im ganzen rot. Daß die Chromatinkörper innerhalb der roten Kernmasse zunächst farblos geblieben sind, ist indessen möglich. In der Folge färbten sich die Chromatinkörper schön blau, während der sonstige Kern- und Zellinhalt noch rote Färbung behielt.

Als dünne Querschnitte der frischen Wurzeln in destilliertem Wasser untersucht wurden, nahmen in den angeschnittenen Zellen die Nukleolen ein scharf umschriebenes, glänzendes Aussehen an, die Chromatinkörper erschienen blasser, weniger deutlich, und waren einer feingranulierten, gerüstartigen, nicht gequollenen Grundmasse eingelagert. Nachdem Schnitte aus der Wurzelspitze 24 Stunden in einer Glasdose mit destilliertem Wasser gelegen hatten, zeigten die Kerne vakuolige, scharf begrenzte Nukleolen, die Chromatinkörper waren in der Grundmasse, welche hier substanzreicher ist, als in den Kernen älterer Wurzelteile, nicht zu erkennen, traten aber nach Zusatz von Essigkarmin (ebenso wie die Chromatinkörper in Schnitten aus älteren Teilen der Wurzel nach gleichartiger Behandlung) wieder scharf hervor, während die Grundmasse und namentlich die Nukleolen quollen. Die Chromatinkörner wurden gefärbt.

Für die Chromatinkörper schließen die mitgeteilten Beobachtungen eine gewisse Quellung in Wasser nicht aus, gelöst werden sie jedenfalls nicht. Ungequollen bleibt aber die Grundmasse. Ein homo-

genes Aufquellen wie bei den Kernen von Phajus wurde nicht beobachtet.

Schon Frank Schwarz hat gefunden, daß es Kerne gibt, die in Wasser nicht quellen, und darauf hingewiesen, daß hier saure oder gerbstoffhaltige Zellsäfte die Quellung verhindern könnten.¹⁾ Bei Vanilla tritt reichlich sauer reagierender Saft an den Schnittflächen der Wurzeln aus. Ich habe jedoch diesen Saft sofort mit destilliertem Wasser abgespült und die Schnitte alsbald in größere Mengen destillierten Wassers eingelegt. Letzteres zeigte nach 24stündigem Liegen der Schnitte in demselben keine saure Reaktion. Übrigens wäre es ja möglich, daß eine Einwirkung saurer Säfte bestimmter Gewebelemente auf Kerne durchschnittener Zellen sich schon im Moment des Schneidens geltend machen kann. Daß bei Phajus, wo die Chromatinkörper im Wasser verquellen, eine Einwirkung saurer Säfte vielleicht in geringerem Maße eintritt als bei Vanilla, ist möglich. Blaues Lackmuspapier, auf die Schnittfläche einer Phajusknolle gebracht, färbte sich nur sehr schwach rot. Gerbstoffreaktionen wurden nach Anwendung von Kaliumbichromat oder Eisenchlorid bei Vanilla nicht beobachtet, während sie bei gleichzeitig in derselben Weise wie Vanilla behandelten Schnitten aus dem Sproß einer Keimpflanze von *Vicia Faba* eintraten.

„Frische Epidermisproben der Blätter von *Platanthera*²⁾ *bifolia* zeigten, nachdem sie mit 0,3proz. Salzsäure und darauf mit Alkohol behandelt worden waren, in Essigsäuremethylgrün (die Lösung enthielt auf 100 g Wasser 1 g reine konzentrierte Essigsäure) intensive Färbung der Chromatinkörper. Ebenso verhielt sich die Blattepidermis von *Orchis latifolia* (Alkoholmaterial).

Blattepidermis von *Orchis latifolia*, welche 6 Wochen in Ätheralkohol gelegen hatte, wurde mit Wasser abgespült und dann in die

¹⁾ Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas (l. c. p. 94). Vgl. auch Büsgen, Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes in den Pflanzen. (S.-A. aus Jenaische Zeitschr. für Naturw. Bd. XXIV, N. F. XVII, p. 9) und die hier citierte Arbeit von Klercker. Daß das Verhalten der Zellinhaltsbestandteile bei der Einwirkung von Wasser auf Gewebsschnitte in mannigfacher Weise durch lösliche Substanzen beeinflusst werden kann, welche in den betreffenden Geweben enthalten sind, ist selbstverständlich. Vgl. Pfeffer, Untersuchungen über die Proteinkörner. (Pringsheim's Jahrbücher, Bd. VIII, 1872.) In bestimmten Fällen will Schwarz (p. 88) eine vollständige Lösung des Kernes in Wasser beobachtet haben. Einen dieser Fälle „Wurzelspitze und Vegetationspunkt des *Epicotyls* von *Pisum sativum*“ habe ich nachgeprüft, ohne die Angabe von Schwarz bestätigt zu finden. In verletzten Zellen des Wurzelvegetationspunktes konnte nach 24stündiger Einwirkung von destilliertem Wasser der Kern durch Essigkarmin nachgewiesen werden, selbst dann, wenn aus der verletzten Zelle der Kern, von Plasma umgeben, in das Wasser ausgetreten war.

²⁾ E. Zacharias, Über einige mikrochemische Untersuchungsmethoden. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch., 1896, p. 272—277.)

oben beschriebene Methylgrünlösung gebracht. Die Chromatinkörper färbten sich schön grün, ohne zu quellen, während der Nucleolus sich nicht färbte. Nun wurde eine Glaubersalzhaltige Methylgrünlösung zugesetzt. Darauf quollen die Chromatinkörper, wobei sich ihre Färbungsintensität nicht wahrnehmbar verminderte, die Nukleolen hingegen quollen gar nicht.

Blattepidermis von *Orchis latifolia* gelangte auf einige Tage in absoluten Alkohol. Ein Teil des Materials wurde nun auf 20 Stunden in 0,3proz. Salzsäure eingelegt und darauf wieder in absoluten Alkohol gebracht. Bei gleichzeitiger Untersuchung des lediglich mit Alkohol und des außerdem mit Säure behandelten Materials in Methylenblau-Fuchsin S-Lösung färbten sich in Säurematerial Zellprotoplasma, Leukoplasten und Nukleolen sofort intensiv rot, darauf die Chromatinkörper der Zellkerne blau. In derselben Zeit färbten sich in dem lediglich mit Alkohol behandelten Material die Chromatinkörper sehr schwach blau, alles sonstige blieb farblos. Blattepidermis von *Platanthera bifida* wurde frisch auf 20 Stunden in 0,3proz. Salzsäure eingetragen und gelangte dann successive auf kurze Zeit in Wasser, Methylenblau-Fuchsin S-Alkohol, Xylol und Canadabalsam. Die Chromatinkörper waren nunmehr schön blau, der sonstige plasmatische Zellinhalt rot gefärbt.“

Erwärmt man Epidermisstücke einheimischer Orchisarten, welche durch zahlreiche und große Leukoplasten ausgezeichnet sind, mit konzentrierter Salzsäure (nach vorgängiger Behandlung mit Alkohol), so färben sich die Leukoplasten violett.

Wurden Stücke der Blattepidermis von Orchisarten in essigsäure Lösung von gelbem Blutlaugensalz eingelegt (1 Vol. wässrige Blutlaugensalzlösung von der Konzentration 1:10 auf 2 Vol. Essigsäure von der Konzentration 1 Essigsäure [1,063 spec. Gew.] : 1 Wasser), nach etwa einer Stunde mit Alkohol von 60 Volumproz. sorgfältig ausgewaschen und schließlich mit einer verdünnten Eisenchloridlösung behandelt, so wurden die Leukoplasten schön blau gefärbt, während das Zellprotoplasma farblos blieb. Blaufärbung zeigte sich stets auch in den Kernen und zwar waren besonders deutlich gefärbt die Chromatinkörper und die Nukleolen.

Auch die Chlorophyllkörner der Blätter von *Orchis incarnata* zeigten die Blutlaugensalzreaktion. Ihre Blaufärbung war jedoch minder intensiv, als bei den Leukoplasten in den Epidermiszellen.¹⁾

Außer den Orchideen wurden noch von Monocotyledonen mikroskopisch geprüft: Arum, Tradescantia, Hyacinthus, Galanthus, Leucojum, Triticum und Zea.

¹⁾ E. Zacharias, Über Eiweiß, Nuklein u. Plastin. (Bot. Ztg., 1883, p. 210—213.)

Hinsichtlich der Epidermis von *Arum* liegen Versuche mit Salzsäure, ferner Verdauungs- und Färbungsversuche vor: Gelangte frische Epidermis des Blattes von *Arum italicum* in 0,28proz. Salzsäure, so erhielten die Chromatinkörper sofort ein glänzendes, scharf umschriebenes Aussehen, ebenso, wenn auch in etwas minderem Grade, nach dem Einlegen frischer Epidermis in verdünnte Essigsäure (1 Vol. konzentrierte Essigsäure von Merck + 1 Vol. Wasser).

Nach 24stündiger Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure auf frische Epidermis war das Zellplasma durchaus gequollen, die Chromatinkörper hingegen waren glänzend und scharf umschrieben. Wurde nun mit einer Mischung von Fuchsin S-Methylenblau¹⁾ ausgewaschen, so färbten sich Plasma und Leukoplasten rot, die Chromatinkörper blieben zunächst farblos und färbten sich dann schön blau. Nukleolen waren nicht kenntlich. Ob rot gefärbte Substanz zwischen den Chromatinkörpern im Kern vorhanden sei, ließ sich nicht entscheiden, da die rote Färbung des umgebenden Plasmas die Beobachtung störte.

Epidermis, die nach 24stündigem Liegen in absolutem Alkohol der Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure ausgesetzt wurde, verhielt sich im wesentlichen wie die frisch in verdünnte Salzsäure eingetragene. Die Chromatinkörper erhielten das glänzende Aussehen nur einige Minuten später und nach 24stündiger Einwirkung der Salzsäure war das Zellplasma etwas weniger gequollen. Wurde dann mit der Fuchsin S-Methylenblau-Mischung ausgewaschen, so färbten sich Plasma, Leukoplasten und Nukleolen rot, auch im Kern machte sich eine rote Färbung geltend, worauf die Chromatinkörper sich schön blau färbten, während in ihrer Umgebung noch rot gefärbte Substanz kenntlich blieb.

Nach längerer Behandlung der Epidermis mit absolutem Alkohol wird ihr Verhalten gegen Salzsäure ein anderes. Als Epidermis, welche 40 Tage in absolutem Alkohol gelegen hatte, auf 24 Stunden in 0,28proz. Salzsäure eingelegt worden war, hatten die Chromatinkörper das charakteristische glänzende Aussehen nicht angenommen. Beim Auswaschen mit Methylenblau-Fuchsin S-Mischung wurde der ganze Zellinhalt rot, darauf wurden hier und da Chromatinkörper von ganz schwach blauer Färbung sichtbar.

Verdauungsversuche: „Epidermis der Blätter von *Arum italicum*“²⁾ gelangte nach Behandlung mit Alkohol und nach Entfernung des Alkohols mit Fließpapier in eine aus Hundemagen hergestellte Verdauungsflüssigkeit.³⁾ Nach 8stündiger Einwirkung dieser Flüssig-

¹⁾ 1 Vol. (250 cem H₂O + 0,25 g Fuchsin S) + 1 Vol. (250 cem H₂O + 0,25 g Methylenblau).

²⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte d. deutschen botan. Gesellsch., 1898, p. 191.)

³⁾ l. c., p. 188.

keit¹⁾ bei 35—41° C wurden Epidermisstücke in derselben untersucht. In den Kernen traten die Chromatinkörper ungemein scharf und glänzend hervor. Das war auch in solchen Zellen der Fall, welche angeschnitten worden waren, so daß die Kerne einseitig frei hervorragten. Plasmareste waren vorhanden, zeigten aber ein zartes, nicht glänzendes Aussehen. Ein Teil der Arumepidermis verblieb nun 14 Stunden bei Zimmertemperatur in der Verdauungsflüssigkeit. Dann wurde dieselbe abgossen und erneuert. Nachdem die Epidermis nun abermals 9³/₄ Stunden bei 35—41° C der Verdauung ausgesetzt worden war, ergab die mikroskopische Prüfung dasselbe Bild, wie bei der ersten Untersuchung.

Daß nicht etwa die Einwirkung von Alkohol die Widerstandsfähigkeit der Chromatinkörper gegen künstlichen Magensaft bedingt hatte, zeigt folgender Versuch: Frische Epidermis von *Arum italicum* gelangte auf 6 Stunden bei 30—40° C in die Verdauungsflüssigkeit, wurde dann in Wasser abgespült und in Methylenblau-Fuchsin S untersucht. Die Nukleinkörper traten nun intensiv blau gefärbt hervor, während die Plasmareste hell rosa gefärbt waren. Auch angeschnittene Zellen zeigten dieses Verhalten. Gleichartige Untersuchung von Epidermisstücken, welche noch weitere 20 Stunden bei Zimmertemperatur in der Verdauungsflüssigkeit gelegen hatten, ergab dasselbe Resultat.

Ein weiterer vergleichender Verdauungsversuch²⁾ wurde folgendermaßen ausgeführt:

„Hühnereiweiß³⁾ wurde in eine Flüssigkeit eingetragen, welche auf 100 ccm 1 prom. Salzsäure 0,1 g Pepsin von Brunnengräber enthielt (vgl. p. 161), nachdem es vorher auf 3 Stunden in 1 prom. Salzsäure gelangt war. Nach gleichartiger Behandlung mit Salzsäure gelangte frische Epidermis des Blattes von *Arum italicum* in die Verdauungsflüssigkeit. Es wurde nun nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur 12 Stunden auf 39—40° C erwärmt. Das Eiweiß wurde gelöst, während Kern- und Plasmareste der Arumepidermis (auch in den zerrissenen Zellen) nach der Verdauung dieselbe Beschaffenheit darbieten, wie nach meinen früheren Verdauungsversuchen.“ „Wurden Epidermis von *Arum italicum* (Alkoholmaterial)⁴⁾ nach dem

¹⁾ Nach 5¹/₂ stündiger Einwirkung derselben Flüssigkeit bei 35—36° C war sowohl mit Alkohol behandeltes, als auch mit destilliertem Wasser gekochtes Hühnereiweiß gelöst.

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (Jahrbuch der hamburgischen wissenschaftlichen Anstalten, XXI, 1903, 3. Beiheft, p. 64.)

³⁾ Das Hühnereiweiß war auf die von E. Schmidt (Ausführliches Lehrbuch der pharmaceutischen Chemie, Bd. 2, 1896, p. 1651) angegebene Art präpariert worden, darauf mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion ausgewaschen, und in 90proz. Alkohol aufbewahrt worden.

⁴⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen. (S.-A. aus Bd. XVI der Abhandl. des naturw. Vereins Hamburg, 1900, p. 29.)

Abspülen mit Wasser auf den Objektträger in Essigkarmin nach Schneider gebracht, so traten alsbald die kleinen Chromatinkörper des Kerngerüstes, sehr scharf umschrieben, gefärbt hervor. Das Zellplasma erschien verschwommen und schwach gefärbt. Nachdem die Epidermis 24 Stunden in einem Gefäß mit Essigkarmin gelegen hatte, war eine etwas stärkere Färbung des Zellplasmas eingetreten, der Gegensatz zu den Chromatinkörpern war aber immer noch beträchtlich. Die Nukleolen waren gequollen und kaum gefärbt.“

In den Zellen der Blattepidermis von *Tradescantia virginica*¹⁾ ist der Kern an Protoplasmafäden suspendiert, in welchen lebhafte Strömung stattfindet. Von dieser werden außer kleinen Körnchen auch Leukoplasten mitgeführt. Besonders zahlreich sind sie in der unmittelbaren Umgebung des Kernes anzutreffen. Der Kern stellt in der lebenden Zelle eine in ihrer ganzen Masse fein punktierte Kugel dar. Sehr kleine Chromatinkörper durchsetzen in großer Anzahl das Innere des Kernes.²⁾

Auf unverletzte Zellen abgezogener Epidermis von *Tradescantia pilosa*-Blättern wirkte destilliertes Wasser nicht wahrnehmbar ein.³⁾ Nachdem solche Epidermen 3 Monate lang in einer Glasdose mit destilliertem Wasser gelegen hatten, war das Aussehen des Zellinhaltes der unverletzten Zellen unverändert. Im Plasma war Strömung zu beobachten.

Wirkt Wasser auf verletzte Zellen ein⁴⁾, so verquellen zunächst die Leukoplasten, während das Zellplasma scharf hervortritt und zugleich der Kern ein glänzendes, sehr deutlich granuliertes Aussehen erhält. Dann wird der Kern homogen, nur die Nukleolen bleiben als glänzende, scharf konturierte Körper deutlich. Endlich kann der Kern platzen, wobei die Nukleolen zum Teil austreten können. Wird nun nach etwa 15 Minuten Essigkarmin zugesetzt, so sieht man in den geplatzten, einseitig geöffneten Kernen schön rot gefärbte, granuliert Substanz, welche sich, allmählich blasser werdend, im Zellraum verliert. Als 10 Minuten nach dem Platzen eines Kernes, wobei Nukleolen ausgetreten waren, Essigkarmin zugesetzt wurde, kontrahierte sich die gequollene Kernmasse wieder und färbte sich. Die ausgetretenen Nukleolen, welche vorher frei im Zellraum zu liegen

¹⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Bot. Ztg., 1881, p. 171.)

²⁾ Vgl. u. a. Farmer and Shove, On the Structure and development of the Somatic and heterotype Chromosomes of *Tradescantia virginica*. (The Quarterly journal of microscopical Science, Vol. 48, Part IV, February 1905.)

³⁾ E. Zacharias, Blütenbiologische Beobachtungen. (Verhandlungen des naturwissenschaftl. Vereins in Hamburg 1905, 3. Folge, XIII, p. 34.)

⁴⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus (Bot. Ztg., 1885, p. 275) und: Über Eiweiß, Nuklein und Platin. (Bot. Ztg., 1883, p. 210.)

schiene, lagen nunmehr in einem aus dem geplatzten Kern hervorstechenden Fortsatz der rot gefärbten, granulierten Kernmasse.

Schnitte aus jungen Blättern von *Tradescantia subaspera* gelangten auf 24 Stunden in ein Gefäß mit destilliertem Wasser, darauf in absoluten Alkohol. Bei der Untersuchung in Alkohol fanden sich in verletzten Zellen geplatzte Kerne, mehrfach auch deformierte, aus den Zellen ausgetretene. In allen diesen Fällen zeigte die granulierten Kernmasse durchaus dasselbe Aussehen wie diejenige intakter Kerne von Alkoholmaterial, welches keine Vorbehandlung mit Wasser erfahren hatte. Sehr instruktiv war ein geplatzter Kern: Ausgetretene Nukleolen lagen scharf umgrenzt und glänzend in der granulierten, ziemlich weit im Zellraum ausgebreiteten Kernmasse. Auf Zusatz von 2 prom. Salzsäure quollen die Nukleolen stark, während sich die Kernmasse wesentlich kontrahierte und glänzende, fein granulierten Beschaffenheit annahm. Essigkarmin färbte sie nun sofort in üblicher Weise, während Nukleolen und Zellplasma ungefärbt blieben.

Wurde Blattepidermis von *Tradescantia pilosa* frisch in kochendes destilliertes Wasser eingetragen, $\frac{1}{4}$ Stunde darin gekocht und darauf in Wasser untersucht, so waren die Kerne substanzreich, kompakt, feingranuliert. Mit Essigkarmin nach Schneider färbten sie sich intensiv.¹⁾ Es liegt demnach kein Grund vor anzunehmen, daß durch Wasser eine Lösung des Chromatins herbeigeführt werden könne, nur Quellungserscheinungen sind im Kern zur Beobachtung gelangt.

Bringt man Alkoholmaterial der Blattepidermis von *Tradescantia virginica*²⁾ auf 24 Stunden in 0,28 proz. Salzsäure, darauf in Alkohol und nach Abspülung mit Wasser in Methylenblau-Fuchsin S, so färben sich Plasma, Leukoplasten und Nukleolen sofort rot, besonders intensiv die Nukleolen. Die Chromatinkörper bleiben zunächst farblos und werden dann blau. Nach 24stündigem Verweilen von Epidermstückchen in der Farbstoffmischung war der ganze Zellinhalt blau gefärbt, am intensivsten die Chromatinkörper und Nukleolen, die Leukoplasten hatten noch einen rötlichen Schimmer. Nach kurzem Auswaschen mit Alkohol erschienen dann Zellplasma und Leukoplasten sofort rot, während die Chromatinkörper und Nukleolen ihre blaue Färbung bewahrten. Längeres Auswaschen bewirkte keine weitere Veränderung.³⁾

Wurde frische Epidermis von *Tradescantiablättern* in eine Lösung von Methylgrün eingelegt, welche auf 100 g Wasser 1 g reine konzentrierte Essigsäure enthielt, so verquollen die Leukoplasten sofort,

¹⁾ Vgl. Frank Schwarz, l. c. p. 98.

²⁾ E. Zacharias, Über die Cyanophyceen, l. c., 1900, 31.

³⁾ E. Zacharias, Einige mikrochemische Untersuchungsmethoden. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1896, p. 277.)

während die Kerne nach einiger Zeit ungequollen und gut gefärbt hervortraten, sie enthielten scharf begrenzte, gefärbte Chromatinkörper.¹⁾ Durchaus abweichende Resultate wurden mit einer Methylgrünlösung erzielt, welche auf 100 g Wasser 1 g reine konzentrierte Essigsäure und 10 g Glaubersalz enthielt (1896, l. c. p. 272). Nach dem Eintragen frischer Epidermis von *Tradescantia virginica* in die genannte Lösung färbten sich zuerst die Kerne lebhaft grün, während die Leukoplasten farblos erschienen; bald aber wurden die Kerne tief blau, fein granuliert und die Leukoplasten färbten sich gleichfalls blau. Nun erfolgte eine Quellung im Kern, die Granulierung verschwand. Während die Nukleolen deutlich hervortraten, verbreitete sich in der Umgebung des Kernes eine bläuliche Färbung, als ob gerärbte Substanz sich vom Kern aus in der Zelle verbreitete. Schließlich erkannte man im Kern ein sehr substanzarmes, zartes Gerüst, in welchem die Nukleolen lagen. Das Gerüst war wie die Nukleolen, Leukoplasten und das Zellplasma blau gefärbt, die Maschenräume des Gerüsts waren farblos, in einzelnen Kernen von einer hellgrünen, homogenen Substanz erfüllt. Ein anderes Verhalten als die frische Epidermis zeigte Alkoholmaterial, wenn es nach dem Abspülen mit Wasser in die Farblösung eingetragen wurde. Hier fand in den Kernen keine oder nur eine geringfügige Quellung statt. Nach längerer Einwirkung der Lösung waren die Kerngranulationen grünblau gefärbt, die Nukleolen, Leukoplasten und das Zellprotoplasma rein blau.

Die Einwirkung von künstlichem Magensaft (1 Vol. Glycerinextrakt aus Schweinemagen auf 3 Vol. 2prom. Salzsäure) auf die Blattepidermiszelle von *Tradescantia virginica* habe ich im Jahre 1881²⁾ wie folgt geschildert: „Zuerst tritt die feine Punktierung des Kernes etwas deutlicher hervor, er verkleinert dabei sein Volumen, dann wird der Kern vollständig homogen und erhält das Aussehen eines Öltropfens. Bald aber beginnt er rasch sein Volumen wieder zu vergrößern, wobei er seinen Glanz verliert und blasig wird, um endlich, ohne wieder erheblich zu schrumpfen, einen scharf konturierten, blasigen, sehr stark lichtbrechenden, gelblichen Körper darzustellen. Sobald der homogen gewordene Kern sich zu vergrößern beginnt, quellen die Stärkebildner rasch auf und verschwinden.“³⁾ Gleichzeitig

¹⁾ Vgl. auch E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1898, p. 196.)

²⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Bot. Zg., 1881, p. 172.)

³⁾ Vgl. E. Zacharias, Über Eiweiß, Nuklein und Plastin. (Bot. Ztg., 1883, p. 210): „Die Stärkebildner von *Tradescantia* verquellen in destilliertem Wasser sehr rasch. Dergleichen verschwinden sie bei der Behandlung mit sehr verdünnter Salzsäure, 10proz. Kochsalzlösung oder künstlichem Magensaft. Nach der Einwirkung von Wasser, Kochsalz oder künstlichem Magensaft konnten jedoch an Stelle der Stärkebildner zarte Körper wahrgenommen werden, die als Reste der Stärkebildner zu be-

wird der vorher kontrahierte Plasmakörper der Zelle in toto oder nur stellenweise blasig aufgetrieben. Den Inhalt der Blase bildet eine sehr hellgelbliche Flüssigkeit. Schließlich platzt die Blase und die Flüssigkeit wird entleert, worauf der gesamte Plasmarest der Zelle wieder zusammensinkt. Er umgibt nun den Kern als eine sehr zarte, farblose, faltige Haut von etwas gequollenem Ansehen, und besteht aus Resten des Wandbelags, der Suspensionsfäden und der Kerntasche. Nach längerer Behandlung mit Magensaft verliert der Plasmarest das gequollene Aussehen und bildet dann eine etwas glänzende Haut um den nicht weiter veränderten Kern. Selbst mehrstündige Verdauung bei 40° C vermag keine weiteren sichtbaren Veränderungen herbeizuführen.

Behandelt man die Verdauungsrückstände vor oder nach der Alkoholextraktion mit destilliertem Wasser, so nimmt man keinerlei Quellungserscheinungen wahr, selbst nicht beim Erwärmen unter Deckglas. Auch die Einwirkung verdünnter Salzsäure oder konzentrierter Essigsäure ruft keine Veränderungen hervor. Sodalösung aber, selbst wenn sie stark verdünnt angewendet wird, läßt die Kerne momentan aufquellen und verschwinden, während die Reste des Zellplasma erhalten bleiben, sofortiger Zusatz von verdünnter Salzsäure stellt die früheren Formverhältnisse wieder her. Das ist jedoch nicht mehr der Fall, wenn die Sodalösung mehrere Stunden eingewirkt hat, die Kerne sind dann vollständig in Lösung gegangen.¹⁾ Nur die Reste des Zellplasma sieht man noch hier und da in den Zellen erhalten. Sie färben sich mit Jod braun. Ebenso wie die Sodalösung verhält sich eine Lösung von phosphorsaurem Natron, während verdünnte Kalilauge zunächst die Kerne, dann auch die Zellplasmareste unter Quellung löst.

Auf Zusatz von konzentrierter Salz- oder Salpetersäure verlieren die Kerne ihren Glanz, erblassen und verlieren erheblich an Volumen.

trachten sind.“ „Legt man Stücke der Blattepidermis von *Tr. virg.* in essigsäure Blutlaugensalzlösung (1 Vol. wässrige Lösung von gelbem Blutlaugensalz von der Konzentration 1:10 auf 2 Vol. Essigsäure von der Konzentration 1 Essigsäure (1,063 sp. Gew.) zu 1 Wasser), so werden die Stärkebildner ungemein stark lichtbrechend und scharf konturiert. Wäscht man dann nach etwa einer Stunde mit Alkohol von 60 Volumproz. sorgfältig aus, und setzt eine verdünnte Lösung von Eisenchlorid hinzu, so werden die Stärkebildner schön blau gefärbt. Im Zellprotoplasma nimmt man an manchen größeren Mikrosomen desgleichen eine blaue Färbung wahr, übrigens aber erscheint es farblos.“

¹⁾ Vgl. E. Zacharias, Über den Zellkern. (Bot. Ztg., 1882, p. 648.) „Wurden Epidermiszellen von *Tradescantia subaspera* der Verdauung ausgesetzt, mit Alkohol behandelt, und dann 24 Stunden lang in 10proz. Sodalösung gelegt, schließlich mit einer schwach essigsauren Lösung von Methylgrün gefärbt und in schwach essigsaurem, mit Wasser stark verdünntem Glycerin untersucht, so konnten in manchen Zellen blaß grün gefärbte, zarte Kernreste erkannt werden.“

Schließlich bleibt ein sehr kleiner, zarter, blasser Körper zurück, umgeben von den scheinbar nicht veränderten Resten des Zellplasmas.¹⁾ Diese Reste werden auch von Schulze'schem Gemisch in der Kälte nicht gelöst, erst beim Erwärmen schmelzen sie zu Tropfen zusammen.

Die Wirkung von Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration auf die Verdauungsrückstände gestaltet sich folgendermaßen: Eine in der Kälte gesättigte Kochsalzlösung bewirkt 2—3 Stunden hindurch keine Veränderung. Läßt man hingegen die Präparate etwa 24 Stunden in der Lösung liegen, so nehmen die Kerne ganz und gar das Ansehen frischer Kerne an, während das Zellplasma keine Veränderung erleidet. In einer Lösung von 10 Proz. erhalten die Kerne schon nach 1—2 Stunden das Ansehen frischer Kerne, nach 24 Stunden sind sie sehr hell und blaß geworden, eine innere Differenzierung ist kaum noch zu erkennen, das Volumen bedeutend vergrößert. Im Zellplasma erkennt man jetzt eine Anzahl sehr kleiner, glänzender Körperchen. Es sind das möglicherweise Reste der Stärkebildner, die infolge der Kochsalzwirkung sichtbar geworden sind. 24 stündige Behandlung der Verdauungsrückstände mit 1,5 proz. Lösung führt zu denselben Resultaten. Eine weit stärkere Volumenvergrößerung der Kerne bringt aber 0,5 proz. Lösung hervor.“

Die Sonderung von Chromatinkörpern und sonstiger Kernsubstanz habe ich 1881 noch nicht berücksichtigt. Sie trat bei den seinerzeit verwendeten ungenügenden optischen Hilfsmitteln nur als feine Punktierung in die Erscheinung. Entsprechendes gilt für meine damaligen Angaben über *Ranunculus lingua*. Indessen lassen diese Angaben über *Tradescantia* und *Ranunculus* auf Grund der heute vorliegenden Kenntnisse erkennen, daß das besondere Verhalten der Kernmasse gegen die verwendeten Reagentien, durch reichlichen Chromatingehalt bedingt war.

In den Epidermiszellen der Blätter von *Hyacinthus orientalis* färben sich die chromatischen Teile des Zellkerns mit Essigkarmin wenn dieser auf frisches oder auf Alkoholmaterial einwirkt.²⁾

Wird Alkoholmaterial kurze Zeit schwach in 0,3 proz. Salzsäure erwärmt, so quillt das Zellplasma, während die chromatinhaltigen Teile des Zellkerns sehr scharf und glänzend hervortreten.

¹⁾ Bei länger andauernder Einwirkung von konzentrierter Salzsäure auf Epidermiszellen von *Tr. subaspera*, welche drei Tage in absolutem Alkohol gelegen hatten, wurde auch die schwer lösliche Substanz zerstört. Man sah in den Zellen nach Zusatz von Jod in Jodkalium dann nur noch braun gefärbte Tropfen. (E. Zacharias, Über den Zellkern. Bot. Ztg., 1882, p. 648.)

²⁾ E. Zacharias, Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895, Ergänzungsband, p. 239, 240.)

Eine vollständige Verquellung des Zellplasmas und der Nukleolen bei sehr scharfer Erhaltung des „Kerngerüsts“ trat ein, als frische Epidermen mit einer Lösung von Jodjodkali in Chloralhydrat behandelt wurden. Nach 3 tägiger Einwirkung von künstlichem Magensaft auf Epidermiszellen von *Hyacinthus*¹⁾ bei Zimmertemperatur war das Zellplasma gequollen, in den Kernen traten glänzende Gerüste scharf hervor. Nach der Behandlung mit Alkohol zeigten dann die Verdauungsrückstände folgende Reaktionen: In 0,3proz. Salzsäure erhielt das Zellplasma ein gequollenes Aussehen, während das Kerngerüst ungemein scharf konturiert und glänzend wurde. Auf Zusatz von konzentrierterer Salzsäure (4 Vol. reine konzentrierte Salzsäure des Handels auf 3 Vol. Wasser) verlor das Kerngerüst sein glänzendes Aussehen und nahm dieselbe gequollene Beschaffenheit wie das Zellplasma an. Nach 24 Stunden war die Quellung des Plasma zurückgegangen, es blieb jedoch, ebenso wie die zarten Reste des Kerngerüsts, ohne jeden Glanz.

Nach 24stündiger Einwirkung von 10proz. Kochsalzlösung erschien das Plasma deutlich und ungequollen, die Kerne waren ohne Spur von glänzender Substanz blaß, zart, wie fein granuliert.

Auf Zusatz einer 1proz. Sodalösung verquoll zuerst das Kerngerüst bis zum völligen Verschwinden. An Stelle des Kernes sah man einen durch das umgebende Plasma scharf abgegrenzten, anscheinend substanzfreien Raum. Das anfänglich unveränderte Plasma nahm später ein etwas gequollenes Aussehen an. Auch nach 24stündiger Einwirkung der Sodalösung war jedoch in dem nunmehr stark gequollenen Plasma die Abgrenzung des anscheinend leeren Kernraums noch zu erkennen. Nach Auswaschen mit Wasser und 24stündigem Liegen des Präparates in 0,3proz. Salzsäure trat ein glänzendes Kerngerüst nicht wieder zutage, ebensowenig wenn die Präparate in der Folge auf 48 Stunden in Essigkarmin gelangten und dann in Glyzerin untersucht wurden: Das Plasma war gefärbt, die Kerne erschienen darin als farblose Stellen. Eine zartgranulierte Substanz schien indessen im Kernraum vorhanden zu sein.

Berthold²⁾ untersuchte die Kerne der jungen Parenchymzellen aus der Blattbasis von *Hyacinthus orientalis*: „Es besteht das Fadengerüst resp. der Faden des Kernes, jedenfalls seiner überwiegenden Masse nach, aus Nuklein, die Grundmasse des Kernes aber vorwiegend aus verdaulichen Eiweißkörpern. Einen unverdaulichen Rest der letzteren hat Zacharias vorläufig mit dem von Reinke im *Äthodium* gefundenen Platin identifiziert, was der Kürze wegen, ohne daß damit etwas präjudiziert werden soll, auch hier geschehen mag.“ Die

¹⁾ E. Zacharias, Über die Zellen der Cyanophyceen. (Bot. Ztg., 1890, S.-A., p. 8.)

²⁾ Berthold, Studien über Protoplasma-mechanik. Leipzig 1886, p. 49, 50.

Nukleolen hinterlassen „einen relativ sehr bedeutenden unverdaulichen Rückstand“. Die „membranartige Hülle“ des Kernes „erwies sich nach 48 stündiger Einwirkung von künstlichem Magensaft als jedenfalls zum größten Teil unverdaulich. Indessen wurde dadurch aber ihre Zusammensetzung jedenfalls in etwas modifiziert, denn sie quoll vor der Verdauung in Sodalösung wenig auf, nachher sehr stark, wurde aber in den Präparaten nach 48 Stunden wieder deutlicher“.

Dickere Gewebestücke aus den inneren Schichten der Fruchtknotenwand von *Galanthus nivalis*¹⁾ wurden unter Wasser beobachtet. In lebenden Zellen, welche Plasmaströmung zeigten, erschien der Nucleolus homogen, die übrige Kernmasse fein granuliert. Das destillierte Wasser beeinflusste die unverletzten Zellen selbst nach Verlauf mehrerer Stunden nicht in merkbarer Weise, hingegen ließ sich die Wasserwirkung sofort in den durchrissenen Zellen beobachten. Im Kern trat hier zunächst der Nucleolus scharf hervor, desgleichen die Granulation. Darauf quoll die ganze Kernmasse außerhalb des Nucleolus stark auf, so daß nunmehr der Nucleolus als ein glänzender, scharf umschriebener Körper einer durchaus homogenen Masse eingebettet war. Meist platzte dann der Kern und der Nucleolus wurde als ein glänzender Körper ausgestoßen. Bei der Einwirkung des Wassers auf größere Nukleolen nahm man das Vorhandensein zweier Substanzen von verschiedenem Aussehen wahr. Eine centrale Masse von stärkerer Lichtbrechung und blasiger Beschaffenheit sonderte sich aus der Gesamtmasse des Nucleolus aus. Eine weitere Veränderung trat infolge von mehrstündiger Einwirkung des Wassers nicht ein. Karmin schien hauptsächlich die centrale Masse zu färben.

In absolutem Alkohol untersucht, traten die Nukleolen ungemein scharf und deutlich hervor. Sie bestehen aus Teilen verschiedener Lichtbrechung.

Eine Mischung von Jodgrün und Diamantfuchsin färbt den Nucleolus intensiv rot, das „Kerngerüst“ rein grün, das Plasma hellrot.²⁾

Sehr geeignet, den Chromatingehalt der Kerne scharf hervortreten zu lassen, ist ein schwaches Erwärmen der Schnitte aus Alkoholmaterial (Blattepidermis)³⁾ unter Deckglas in verdünnter Essigsäure (1 Vol. konzentrierte Essigsäure + 1 Vol. Wasser). Die chromatinhaltigen Teile des Zellkerns nehmen dann ein außerordentlich scharf konturiertes und glänzendes Aussehen an, während die Nukleolen und das Zellprotoplasma stark quellen. Diese Verschiedenheit zwischen den Chromatinkörpern und dem sonstigen protoplasmatischen Zellinhalt tritt nicht in der Weise hervor, wenn das Alkoholmaterial zunächst

¹⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 261.)

²⁾ E. Zacharias, Erwiderung. (Bot. Ztg., 1888, p. 91.)

³⁾ E. Zacharias, Verhalten des Zellkernes in wachsenden Zellen, l. c., p. 241.

mit künstlichem Magensaft, dann wieder mit Alkohol behandelt, und dann erst dem Erwärmen in verdünnter Essigsäure unterworfen wird. Nach dieser Behandlungsweise bleibt die Quellung des Zellplasmarestes aus, oder erreicht doch nur einen verhältnismäßig geringen Grad.

Als Stücke der Blattepidermis, nachdem sie aus absolutem Alkohol auf 24 Stunden in 0,3proz. Salzsäure und darauf wieder in Alkohol gelangt waren, in Methylenblau-Fuchsin S eingetragen wurden¹⁾, färbten sich Zellplasma und Nukleolen sofort intensiv rot, das chromatinhaltige Kerngerüst blieb zuerst farblos, um dann aber nach wenigen Minuten intensiv blaue Färbung anzunehmen. Läßt man das Farbstoffgemisch längere Zeit hindurch auf die mit Salzsäure vorbehandelten Epidermisstücke einwirken, so werden schließlich auch Zellplasma und Nukleolen blau gefärbt. Nach Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit und darauf folgendem Verweilen in Alkohol ist das Verhalten von Zellprotoplasma und Nucleolus gegen das Farbstoffgemisch ein anderes, als nach der Vorbehandlung mit verdünnter Salzsäure. Der Zellplasmarest färbt sich zunächst hellrot, während Kerngerüst und Nukleolarrest farblos bleiben, dann färben sich die beiden letzteren Bestandteile hellblau. Sehr bald nimmt auch der Plasmarest eine bläuliche Färbung an, und wenn schließlich das Kerngerüst eine intensiv blaue Färbung erlangt hat, sind auch Plasma- und Nukleolarrest lebhaft blau gefärbt worden.

Nach Behandlung von Zellen aus der Fruchtknotenwand mit Blutlaugensalzeisenchlorid (vgl. p. 197, Anm.) liegt der Nucleolus als schön blau gefärbter Körper in einem von der Kernmasse umschlossenen Hohlraum, welchen er nur zum Teil ausfüllt. Die Kernmasse enthält kleine blau gefärbte Körnchen, welche in der Peripherie des Hohlraumes besonders dicht liegen.

Nach mehrtägiger Einwirkung von 10proz. Kochsalzlösung auf frische Gewebestücke war der Nucleolus blasser, als die übrigen Teile des Zellinhaltes. Die Präparate wurden mit destilliertem Wasser abgespült und in absolutem Alkohol untersucht. Dann ergab der Vergleich mit frisch in Alkohol eingelegtem Material, daß ein großer Teil der Nukleolarsubstanz durch die Kochsalzbehandlung entfernt worden war. Der Rest besaß einen sehr lockeren Bau. In den mit Kochsalz behandelten Präparaten zeichnete sich der Nucleolus nach Tinktion mit neutraler Karminlösung nicht durch intensivere Färbung aus, wie er es in lediglich mit Alkohol behandelten Präparaten zu tun pflegt.

Für den Erfolg der Färbung ist die Reaktion der Farbstofflösung von ausschlaggebender Wichtigkeit. Eine Lösung, hergestellt durch

¹⁾ E. Zacharias, Über Chromatophilie. (Ber. d. deutschen botan. Gesellsch., 1893, p. 191.)

Eintragen von Karmin im Überschuß in stark verdünnte Ammoniakflüssigkeit, wirkt auf Alkoholmaterial in der Weise, daß die Nukleolen sehr rasch und ungemein intensiv gefärbt werden. Die Färbung der übrigen Kernbestandteile erfolgt später und wird bei weitem nicht so intensiv. Der Nucleolus ist dabei sehr scharf konturiert, während die Chromatinkörper nur undeutlich hervortreten. Wird hingegen eine mit Essigsäure stark angesäuerte Karminlösung verwendet, so treten die Chromatinkörper, intensiv gefärbt, scharf hervor, während der Nucleolus sich zunächst gar nicht färbt, blaß und etwas gequollen aussieht. Später nimmt er etwas Farbe auf, bleibt aber immer heller als die übrigen Teile des Kernes. Bringt man verdautes Material, welches mit destilliertem Wasser sorgfältig ausgewaschen wurde, in die neutrale Karminlösung, so erfolgt nach kürzerer Einwirkung derselben überhaupt keine Färbung. Die Chromatinkörper quellen bis zum völligen Unkenntlichwerden, während zunächst der kleine Nukleolarrest sehr deutlich wird, um dann auch zu quellen. Setzt man nun Essigsäure zu, so gehen die Quellungen sofort zurück, der granulierte Teil des Kernes färbt sich intensiv, dann auch in minderm Grade der Nukleolarrest.

Künstlicher Magensaft, auf frisches Material einwirkend, verleiht dem Nucleolus bald ein sehr blasses, gequollenes Aussehen, während im übrigen Kern glänzende Chromatinkörper äußerst scharf hervortreten. Weder im Nucleolus noch im sonstigen Zellinhalt sind derartige Körperchen zu erkennen. Nach längerer Behandlung mit künstlichem Magensaft stellt der Nucleolus einen äußerst blassen, vielfach sehr schwer wahrnehmbaren Körper dar, der auf Zusatz von Essigsäureblutlaugensalz wieder scharf hervortritt, dann aber im Vergleich mit nicht verdauten, übrigens gleichartig behandelten Nukleolen äußerst klein erscheint, ohne ein dichteres Aussehen zu besitzen als diese. Vergleichende Messungen ergaben, daß die Durchmesser von verdauten und nicht verdauten Nukleolen, welche gleichmäßig mit Essigsäureblutlaugensalz behandelt worden waren, sich verhielten wie 1:3. Wurden Gewebestücke nach der Verdauung in absolutem Alkohol untersucht, so zeigten sich nur schwer wahrnehmbare, zarte, sehr geringfügige Reste der Nukleolen. Die Verdauung hatte in den beschriebenen Fällen 24 Stunden gedauert. Nachträglich überzeugte ich mich davon, daß durch länger fortgesetzte Einwirkung von Magensaft eine weitere Verkleinerung der Verdauungsreste nicht erzielt wurde.

Frische Epidermis der Blätter von *Leucojum aestivum*¹⁾ wurde in eine Lösung von Methylgrün eingelegt, welche auf 100 g Wasser

¹⁾ E. Zacharias, Über einige mikrochemische Untersuchungsmethoden, I. c., 1886, p. 272—277.

1 g reine konzentrierte Essigsäure enthält. Darauf färbten sich die chromatinhaltigen Teile der Kerne, während die Nukleolen ungefärbt blieben. Dasselbe Resultat wurde bei der Verwendung von *Leucojum-epidermis* erzielt, welche 48 Stunden in Alkohol gelegen hatte und darauf in Wasser abgespült worden war.

Intensive Färbung der Chromatinkörper, während die Nukleolen farblos blieben, erfolgte sofort nach Zusatz der essigsäuren Methylgrünlösung in Epidermisstücken, welche die folgenden Arten der Vorbehandlung erfahren hatten: 1. Frisch 24 Stunden 0,3proz. Salzsäure, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden absoluter Alkohol. 2. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden 0,3proz. Salzsäure, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden absoluter Alkohol. 3. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft bei Zimmertemperatur, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden Alkohol. 4. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft bei Zimmertemperatur, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden Alkohol.

Wurde eine Methylgrünlösung verwendet, welche auf 100 g Wasser 1 g reine konzentrierte Essigsäure und 10 g Glaubersalz enthielt, so quollen in den Kernen frischer Epidermisstücke die Chromatinkörper, das Kerninnere wurde homogen und färbte sich zunächst schön grün. Die Nukleolen blieben jedoch ungequollen.

Unmittelbar nach dem Einlegen in Methylenblau-Fuchsin S-Lösung verhielt sich die Färbung der auf verschiedene Weise vorbehandelten Epidermis von *Leucojum aestivum* wie folgt:

1. Alkohol, in Wasser abgespült. Chromatinkörper schwach blau, alles andere farblos.
2. Frisch 24 Stunden 0,3proz. Salzsäure, in Wasser abgespült. Chromatinkörper intensiv blau, alles sonstige rot.
3. Frisch 24 Stunden 0,3proz. Salzsäure, 24 Stunden Alkohol. Färbungsergebnis wie bei 2. Verhalten der Nukleolen innerhalb des intensiv blau gefärbten Kernes nicht sicher zu erkennen.
4. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden 0,3proz. Salzsäure, in Wasser abgespült, oder nach der Salzsäurebehandlung 24 Stunden Alkohol. Chromatinkörper intensiv blau, alles andere, besonders die Nukleolen, intensiv rot.
5. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft, in Wasser abgespült. Chromatinkörper intensiv blau, Nukleolarreste nicht kenntlich. Plasma kaum hellrot.
6. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft. 24 Stunden Alkohol. Chromatinkörper, Nukleolarreste, Plasma blau.
7. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft, in Wasser abgespült. Chromatinkörper intensiv blau, Nukleolarreste schwach blau mit rötlichem Schimmer. Plasma hellrosa.

8. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft, 24 Stunden Alkohol. Chromatinkörper intensiv blau, Nukleolarreste nicht kenntlich, dickere Plasmaansammlungen deutlich rot.

Verschiedene Angaben liegen vor über das mikrochemische Verhalten der Zellen von Weizenembryonen¹⁾:

Untersucht man frische, trockene Schnitte, so erscheinen die Kerne glänzend, homogen. Ebenso liegen sie als homogene Klumpen in den Zellen, wenn frische Schnitte nach 24stündiger Behandlung mit Äther in diesem untersucht werden.

Läßt man zu frischen, trockenen Schnitten destilliertes Wasser hinzufießen, so erfolgt eine momentane Verquellung der Kerne, man glaubt nun an ihrer Stelle von Flüssigkeit erfüllte, gegen das umgebende Plasma scharf abgegrenzte Räume vor sich zu haben. Auf Zusatz von Essigkarmin werden die Kerne aber wieder deutlich und färben sich in üblicher Weise. Auch in der Umgebung des Schnittes erkennt man nun gefärbte, frei in der Untersuchungsflüssigkeit liegende Kerne, die im Beginn der Wasserwirkung in beträchtlicher Anzahl, umgeben von sonstigem Zellinhalt, aus den Schnitten auszutreten pflegen. Solche frei im Wasser liegende Kerne erscheinen zunächst völlig homogen, Nukleolen sind nicht sichtbar. Die Abgrenzung der Kerne gegen das umgebende Wasser wird namentlich durch ihnen anhängende Plasmakörnchen bezeichnet. Nach 24stündiger Wasserwirkung auf dem Objektträger waren solche Kerne fein granuliert und enthielten innerhalb ihrer granulierten Masse homogene Stellen, welche den Nukleolen zu entsprechen schienen. Die Nukleolen treten hier nach der Behandlung mit Wasser nicht in der Weise scharf umgrenzt hervor, wie das in anderen Fällen vorzukommen pflegt.²⁾

¹⁾ Zerdrückt man Weizenembryonen auf feuchtem Lackmuspapier, so erhält man eine, wenn auch nur schwach saure Reaktion.

²⁾ Die Nukleolen wurden indessen deutlich und färbten sich, als Schnitte aus dem Scutellargewebe zunächst frisch auf 24 Stunden in destilliertes Wasser, dann auf einige Tage in absoluten Alkohol eingelegt, und schließlich mit Glaubersalzlösung behandelt wurden. Als ferner Embryonalschnitte nach 24stündiger Wasserbehandlung in Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin-S-Lösung gelangten, erkannte man in den aus dem Schnitt ausgetretenen Kernen zum Teil intensiv gefärbte Nukleolen; in einigen Fällen waren die Kerne geplatzt, die Nukleolen lagen im Riß oder unmittelbar vor demselben. Das Innere des Kerns war schwach diffus gefärbt. In einzelnen Fällen schien ein ungequollenes Gerüst vorhanden zu sein, doch konnte nicht sicher ermittelt werden, ob dieses im Kern oder in dem umgebenden, mit dem Kern aus der Zelle hervorgequollenen Plasmarest lag. Bei Einstellung auf das Centrum des Kerns verschwand das Gerüst meist völlig, daß es der Peripherie des Kerns angehöre, blieb möglich. Auch die geplatzen, ganz blaß gefärbten Kerne, welche kein Gerüst erkennen ließen, kontrahierten sich beim Auswaschen mit Essigkarmin, sie färbten sich dann intensiv, erschienen substanzreich und granuliert.

Mit Essigkarmin färbten sich dann die Kerne in üblicher Weise. Außerhalb der Schnitte waren nach der Färbung ganze Haufen von ausgetretenen Kernen zu sehen, welche von nicht gefärbten, gequollenen Plasmatrümmern umgeben waren.

Auch nach 24stündigem Liegen von frischen Schnitten in einer Glasdose mit größeren Mengen destillierten Wassers färbten sich die Kerne in Essigkarmin. Sie waren fein granuliert und enthielten farblose Stellen, welche den Nukleolen zu entsprechen schienen.

Ebenso wie bei der Einwirkung von Wasser auf frische, trockene Schnitte findet auch eine Quellung der Kerne statt, wenn Schnitte, die frisch auf 24 Stunden in Äther eingelegt, darauf mehrere Tage mit absolutem Alkohol behandelt worden sind, in Wasser gelangen. In den gequollenen Kernen sind indessen Nukleolen und andeutungsweise ganz feine Granulationen kenntlich. Nach 24 Stunden zeigt sich keine Veränderung. Auf Zusatz von Essigkarmin färben sich die Kerne und Granulationen treten deutlich hervor.

Um über etwaige lösende Wirkung des Wassers auf Bestandteile des Zellinhaltes etwas zu erfahren, wurden Schnitte, die frisch 24 Stunden mit Wasser und dann successive 24 Stunden mit absolutem Alkohol, Äther und abermals mit Alkohol behandelt worden waren, mit solchen verglichen, die lediglich in Äther und absolutem Alkohol gelegen hatten. Die Untersuchung erfolgte zunächst in absolutem Alkohol und erstreckte sich auf Zellen des Scutellargewebes. Dabei zeigten die Kerne ein gleichartiges, mehr oder weniger homogenes, glänzendes Aussehen. Auf Zusatz von Essigkarmin färbten sich die mit Wasser vorbehandelten Kerne im allgemeinen etwas schwächer und sahen homogener aus, als die lediglich mit Äther und Alkohol behandelten, welche zum Teil eine deutlicher granuliert Beschaffenheit erhielten. Ob es sich hier und in anderen Fällen tatsächlich um dicht gelagerte Chromatingranula handelte oder ob optische Durchschnitte der Bälkchen eines feinen Gerüstwerkes dem Bilde der Granulationen zugrunde lagen, wurde nicht ermittelt.¹⁾

Eine vergleichende Untersuchung der Einwirkung von 2 prom. Salzsäure auf Schnitte aus dem Scutellum, welche teils nach 24stündiger Vorbehandlung mit destilliertem Wasser, teils unmittelbar in absoluten Alkohol gelangt waren, ergab in beiden Fällen eine Quellung der Nukleolen, während der Kern im übrigen dicht gelagerte, glänzende Granulationen aufwies, welche sich in Essigkarmin gut färbten. Die Lagerung der Granulationen war in den mit Wasser vorbehandelten Kernen dichter. Daß die in Salzsäure glänzend erscheinende,

¹⁾ Vgl. Koernicke, Untersuchungen über die Entstehung und Entwicklung der Sexualorgane von *Triticum*. (Diss. Bonn. 1897, p. 153.)

in Essigkarmin färbbare Substanz sich durch die Wasserwirkung vermindert habe, konnte nicht behauptet werden.

Hinsichtlich der Wasserwirkung auf Protoplasma und Proteinkörner¹⁾ wurde folgendes ermittelt: Der Vergleich von Schnitten aus dem Scutellum, welche teils nach je 24stündiger Behandlung mit destilliertem Wasser, absolutem Alkohol und Äther, teils nach 24stündigem Liegen in Äther auf längere Zeit in absoluten Alkohol gelangt waren, ergab bei der Untersuchung in absolutem Alkohol hinsichtlich der Proteinkörner eine ausgesprochene Verschiedenheit. Während im Ätheralkoholmaterial die Körner homogen und kompakt erschienen, hatten sie in den mit Wasser vorbehandelten Schnitten eine vakuolige Beschaffenheit. Der allgemeine Eindruck ging dahin, daß die Gesamtmasse der Proteinkörner in den mit Wasser vorbehandelten Schnitten geringer war, als in den lediglich mit Alkohol und Äther behandelten.²⁾

Verschieden war das Verhalten des Zellinhaltes auf Zusatz von 2prom. Salzsäure nach differenter Vorbehandlung der Scutellarschnitte. Während in Schnitten, welche mit Wasser vorbehandelt und dann in Alkohol eingelegt worden waren, der Zellinhalt abgesehen vom Kern sofort vollständig verquoll, erfolgte die Verquellung von Alkoholmaterial sehr viel langsamer und weniger vollständig.

Die vergleichende Prüfung in Jodjodkali von Embryonalschnitten, die zum Teil lediglich 24 Stunden mit Äther, darauf mehrere Tage mit Alkohol behandelt worden waren, zum Teil vor der Ätheralkoholbehandlung auf je 24 Stunden in Wasser und Alkohol gelangt waren, zeigte keine deutlich wahrnehmbare Verminderung der Aleuron- und Zellplasmasubstanzen durch die Wasserbehandlung, auch nicht in angeschnittenen Zellen.

Zusatz einer gesättigten Lösung von chemisch reinem Kochsalz zu Kernen, welche nach 24stündiger Einwirkung von destilliertem Wasser auf Embryonalschnitte außerhalb der Zellen im Wasser lagen, verursachte eine momentane, vollständige Verquellung der Kerne, so daß sie völlig unkenntlich wurden.

Da für die Beurteilung der Wasserwirkung auf den Zellinhalt dessen eventueller Gerbstoffgehalt in Betracht kommen kann (vgl. p. 190), so wurden Prüfungen des Embryonalgewebes mit Eisenchlorid und Kaliumbichromat vorgenommen. Dabei trat Gerbstoffreaktion nur

¹⁾ Auf die einschlägige Literatur soll hier nicht eingegangen werden. Vgl. u. a. Pfeffer, Untersuchungen über die Proteinkörner. (Pringsheim's Jahrbücher, Bd. VIII, 1872, p. 491.) Kritzler, Mikrochem. Untersuchungen über die Aleuronkörner. (Diss., Bern 1900.) Vines, On the chemical composition of Aleuron grains. (Proceedings of the royal Soc. of London, V. 28, 1879.) Tschirch, Angew. Pflanzenanatomie, p. 46, 1889.

²⁾ Die verwendete Weizenprobe war von normaler Keimfähigkeit.

in den Haupt- und Seitenwurzeln ein, keine Spur davon in dem sonstigen Embryonalgewebe inkl. Scutellum. Auch in den Kleberzellen fehlte sie. In den Wurzeln war die Gerbstoffreaktion streng beschränkt auf die Wurzelhaube und die äußeren Zellschichten der Wurzel. Zwei äußerste Zellagen zeigten die Reaktion besonders intensiv, weiter nach innen trat sie schwächer ein, im Plerom fehlte sie vollständig. Wurden frische, trockene Schnitte in destilliertes Wasser eingetragen, so quollen die Kerne in den gerbstoffhaltigen Wurzelzellen in derselben Weise wie in den übrigen Embryonalzellen.

Wirkt Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin S-Lösung (vgl. p. 182) auf frische Embryonalschnitte ein, so färben sich Plasma- und Aleuronkörner intensiv, ohne wahrnehmbar zu quellen. In den Kernen sieht man schön gefärbte Nukleolen, im übrigen quillt die Hauptmasse des Kernes auf, ohne sich zu färben. In der gequollenen, nicht gefärbten Masse sind aber auch gefärbte, nicht gequollene Gebilde zu erkennen, welche ein Gerüst zu bilden scheinen. Der Kern enthält jedenfalls außer der quellenden, nicht färbbaren ziemlich viel nicht quellbare färbbare Substanz.

Ähnlich wurden auch bei der Untersuchung von Alkoholmaterial in Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin S innerhalb der Scutellarzellen Aleuronkörner und Plasma intensiv gefärbt gefunden. In den Kernen zeigten sich gefärbte Nukleolen und ziemlich engmaschige, gefärbte Gerüste. Es ist auf Grund sonstiger Erfahrungen anzunehmen, daß es sich hier nicht um dieselben Dinge handelte, welche durch Essigkarmin gefärbt werden.

Für die Beurteilung der Magensaftwirkung war es von Interesse, zunächst das Ergebnis einer Behandlung mit verdünnter Salzsäure in der Wärme kennen zu lernen. Es wurden daher frische Schnitte aus dem Scutellum in 2prom. Salzsäure eingetragen, darin 24 Stunden bei 39—40° C belassen, in absolutem Alkohol abgewaschen und darin aufbewahrt. Bei der Untersuchung in Alkohol waren die Kerne von granulierter oder dicht gerüstartiger Beschaffenheit. Sie enthielten große Nukleolarlücken, die Nukleolen selbst waren aber nicht zu erkennen. Auch die Aleuronkörner waren als isolierte Körper nicht zu erkennen, ein reichlicher Inhalt erfüllte aber den ganzen Innenraum der Aleuron führenden Zellen. Auch bei der Untersuchung in Essigkarmin waren die Scutellar- und auch die Kleberzellen vollständig von plasmatischem Inhalte ausgefüllt.

Nach der Behandlung mit Glaubersalz-Fuchsin S-Essigsäurelösung war in den Scutellarzellen ein gefärbtes Netzwerk zu sehen, keine gefärbten Aleuronkörner, wie sie sehr schön und scharf gefärbt hervortreten, wenn lediglich mit Alkohol vorbehandelte Schnitte in der Glaubersalzlösung untersucht werden. Durch die Salzsäurebehandlung war also eine wesentliche Veränderung des Zellinhaltes bewirkt worden,

die Körner wurden zerstört, ob sie aber ganz gelöst wurden, so daß nur das zwischen ihnen vorhandene Zellplasma übrig blieb, oder ob auch noch Reste der Aleuronkörner ungelöst blieben und in dem bei der Glaubersalzbehandlung gefärbten Netzwerk vorhanden waren, bleibt unsicher.

Die Wirkung von Verdauungsflüssigkeit wurde folgendermaßen geprüft: Frische Schnitte gelangten zunächst auf 1 Stunde in 2prom. Salzsäure, darauf in eine Lösung, welche auf 100 ccm 2prom. Salzsäure 0,1 g Pepsin von Brunnengraber (vgl. p. 161) enthielt. In dieser verblieben die Schnitte 24 Stunden bei 40° C. Gleichartig behandeltes Hühnereiweiß wurde gelöst. Die Schnitte wurden dann nach Abwaschen mit 2prom. Salzsäure in absoluten Alkohol übertragen. Die Verdauung hatte in üblicher Weise den Kern und ein beträchtliches Plasmare residuum hinterlassen. In Scutellar- und Kleberzellen zeigte sich bei der Untersuchung in Essigkarmin ein Kernrest in einem stark kontrahierten, die Zelle bei weitem nicht mehr ausfüllenden, substanzarmen Plasmarest.

Das verdaute, in Alkohol übertragene Material wurde dann auch in Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin S untersucht: Die Scutellarzellen zeigten meist keine Färbung der geringen Plasmareste. Diese quollen nicht, hingegen quollen die Kernreste unter geringer Färbung. In einigen Fällen konnte ich im gequollenen Kernrest sehr kleine, nicht gequollene Körperchen, wahrscheinlich Nukleolarreste erkennen. Nach längerer Einwirkung der Farblösung färbten sich die Plasmareste ein wenig, ohne jedoch zu quellen. Ungequollene Gerüste konnten im Kern nicht festgestellt, ihr Vorkommen aber auch nicht sicher ausgeschlossen werden, da bei der relativen Kleinheit und häufig unregelmäßigen Gestalt des gequollenen Kernrestes nicht immer sicher zu entscheiden war, ob es sich um ungequollene, in den Kern einspringende Plasmateile, oder um Bestandteile des Kernes selbst handelte. Jedenfalls bestand aber die Hauptmasse des Kernrestes aus einer in Glaubersalz quellbaren Substanz.

Die Scutellarzellen, wie auch meist die Kleberzellen hatten durch die Verdauung bei weitem die Hauptmasse ihres Inhaltes verloren. Einzelne Scutellarzellen waren aber vorhanden, die stärker gefärbte Kernreste und ziemlich stark gefärbten plasmatischen Inhalt besaßen. Dieser füllte die Zellen fast ganz aus und war um ein Vielfaches substanzreicher als die Plasmareste der übrigen Zellen. Distinkte Aleuronkörner waren aber nicht zu erkennen. Auch unter den Kleberzellen fanden sich einzelne mit stark gefärbtem, substanzreichem, plasmatischem Inhalt neben solchen mit ganz geringen, nicht gefärbten Plasmaresten. Die Zellen mit dem stark gefärbten Inhalt entsprachen den Zellen von Embryonalschnitten, welche mit 2prom. Salzsäure, im übrigen aber durchaus wie die in Verdauungsflüssigkeit

eingetragenen behandelt worden waren. Es ist anzunehmen, daß bei der Behandlung mit Verdauungsflüssigkeit in einzelne Zellen der dickeren Schnitte lediglich die Salzsäure eingedrungen war. Da aber nicht nur angeschnittene, sondern meist auch innere Zellen von Schnitten, welche aus mehreren Zellenlagen bestanden, den geringen Inhaltsrest zeigten, wie er nach ausschließlicher Salzsäurebehandlung nicht vorkommt, so muß angenommen werden, daß wirksame Verdauungsflüssigkeit auch in diese inneren Zellen gelangen kann.¹⁾ Warum einzelne Zellinhalte dann nicht von ihr erreicht wurden, bleibt zu untersuchen. Eine besondere Beschaffenheit der Membranen der fraglichen Zellen konnte nicht festgestellt werden.

Wirkte 2prom. Salzsäure auf das verdaute, mit Alkohol behandelte Scutellargewebe ein, so wurde das Aussehen der Zellinhalte, welche vollendete Pepsinwirkung erkennen ließen, nicht verändert. Die Kernreste waren homogen und glänzend, im Plasmarest trat keine merkliche Quellung ein. Zusatz von Essigkarmin färbte Kern- und Plasmarest. Die Zellen, auf deren Inhalt Pepsin nicht eingewirkt hatte, besaßen Kerne, welche dem unverdauten Alkoholmaterial gegenüber nicht merklich verkleinert erschienen. Sie waren dicht granuliert, Nukleolarräume waren kenntlich. Wurde verdautes, mit Alkohol behandeltes Material auf 24 Stunden in destilliertes Wasser eingetragen, so wurden die Verdauungsreste anscheinend nicht weiter verändert. Die Behandlung der verdauten, und darauf in absoluten Alkohol eingelegten Schnitte mit Sodalösungen²⁾ ergab folgendes:

Ließ man 1proz. Sodalösung zu dem in Alkohol liegenden Präparat hinzufließen, so verquoll zunächst der Kern (er erschien dabei ganz homogen), dann auch das Plasma. Schnitte, welche 24 Stunden in der 1proz. Sodalösung gelegen hatten, zeigten nur noch in einzelnen Zellen nach der Behandlung mit Essigkarmin Inhaltsreste. Nach der Beschaffenheit der letzteren konnte vermutet werden, daß es sich um Zellen handelte, in welchen die Verdauungsflüssigkeit nicht zur Wirkung gelangt war.

$\frac{1}{2}$ proz. Sodalösung wirkte wie die 1proz. Lösung, desgleichen 0,25 proz. In 0,03 proz. Lösung wurde der vorher homogen und glänzend aussehende Kernrest zunächst feinkörnig, dann quoll er homogen auf, während das Plasma zunächst unverändert scharf konturiert und fein granuliert erschien, im Laufe von 2 Stunden wurde es dann aber, ohne aufzuquellen, sehr hell und zart. Wurde nun Essigkarmin hinzu-

¹⁾ Hinsichtlich der Salzsäurewirkung auf Eiweißkörper vgl. Lawrow, Zur Kenntnis der peptischen und tryptischen Verdauung. (Ztschr. für physiolog. Chemie, Bd. 43, p. 447.)

²⁾ Es wurde Soda krist. pro analysi von Merck verwendet. Die Angaben beziehen sich auf Scutellarzellen.

gesetzt, so trat auch der Kernrest in anscheinend unveränderter Beschaffenheit wieder hervor.

Nach 24stündiger Einwirkung der 0,03proz. Lösung und darauf folgendem Zusatz von Essigkarmin konnte in einer bestimmten Zelle, welche vor dem Zufließen der Sodalösung erkennen ließ, daß die Verdauungsflüssigkeit eingewirkt hatte, ein gefärbter Kernrest und ein sehr zarter, gefärbter Plasmarest erkannt werden. Beide schienen aber durch die Sodabehandlung an Substanz eingebüßt zu haben.

In dem Samen von *Zea* wurden die Kerne der zu Gefäßcylindern sich entwickelnden Zellen des Embryos untersucht.¹⁾ Kerne aus den Gefäßzellen des Hypokotyls enthielten nach längerer Behandlung der Embryonen mit Alkohol und Äther bei der Untersuchung in Alkohol ein dichtes, glänzendes Gerüst, in manchen Fällen erschien die den Nucleolus umgebende Kernmasse fast homogen. Nach 24stündiger Magensaft- und darauf folgender Alkoholbehandlung war der Nucleolus blaß und substanzarm geworden, er hatte mehr oder weniger an Umfang verloren. Ein wesentlicher Teil seiner Substanz war ihm durch die Verdauungsflüssigkeit entzogen worden. Auch die sonstige Substanz des Kernes hatte durch die Magensaftbehandlung erheblich an Masse verloren. Der zurückbleibende Rest derselben zeigte das charakteristische glänzende Aussehen. Nach Färbung mit Essigkarmin ließen sich in den Gerüstbalken des Kernes kleine, intensiv gefärbte Körnchen erkennen.

Die Zellen von Dicotyledonen sind bei mikrochemischen Untersuchungen nur wenig berücksichtigt worden. Einige Angaben finden sich über *Cucurbita*, *Urtica*, *Ricinus*, *Primula*, *Ranunculus*, *Sambucus* und *Pinguicula*.

„In den Kernen lebender Haarzellen von *Cucurbita*“²⁾ sieht man in einer homogenen Grundmasse den Nucleolus und ferner eine Anzahl kleiner Körperchen, welche als Chromatinkörper anzusehen sind. Auf Zusatz von absolutem Alkohol beobachtete ich eine Gerinnung der Grundmasse, die Nukleolen und Chromatinkörper waren nun eingebettet in eine den ganzen Kern gleichmäßig erfüllende, sehr fein granulierte Substanz. Durch Jodjodkali konnte dieselbe braun gefärbt werden. An Material, welches längere Zeit in Alkohol aufbewahrt worden war, erkannte ich in großen Kernen eine schöne Gerüst- oder Wabenstruktur der feingranulierten Substanz. Es muß

¹⁾ E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895, Ergänzungsband, p. 218.)

²⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. Ber. der deutschen botan. Gesellsch., 1902, p. 299. Vgl. auch Rosenberg, Über die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. (Flora, 1904.)

übrigens als fraglich betrachtet werden, inwieweit die Gerüste fixierter Kerne verschiedener Organismen im Leben vorhanden sind, und in welchem Grade sich etwa eine durch die Reagenzien veränderte, im Leben homogen erscheinende Substanz an ihrer Bildung beteiligt.“¹⁾

Durch eine Mischung von Jodgrün und Diamantfuchsin²⁾ lassen sich die Nukleolen intensiv rot, die Chromatinkörper grün bis violett oder blau färben, während sich das Gerüst nur sehr schwach in violetten bis roten Tönen färbt. Die größeren Chromatinkörper größerer Kerne schienen in bestimmten Fällen zum Teil durch Fortsätze in das Gerüst überzugehen.

Schnitte aus dem Hypocotyl des Keimlings von Cucurbita zeigten in den großen Kernen großer chlorophyllhaltiger Zellen nach 3 tägigem Liegen in 2prom. Salzsäure glänzende, scharfumschriebene Chromatinkörper von verschiedener Größe, zum Teil von äußerster Kleinheit. Von irgend welchen Verbindungen dieser Körper mit Gerüstwerken war nichts zu erkennen, zwischen den Körpern war indessen eine ganz fein granuliert, glanzlose Masse wahrzunehmen.

Auch in den Haaren jüngerer Blätter traten bei der Untersuchung in 2prom. Salzsäure die Chromatinkörper sehr scharf als homogene oder vakuolige Körper oder als „Ringkörper“ hervor, während die Nukleolen stark quollen. In den Kernen jugendlicher Zellen waren die Chromatinkörper unter sich anscheinend gleich groß, in den großen Kernen der größeren Haarzellen aber von recht ungleicher Größe. In den kleineren jüngeren Kernen erkannte ich zwischen den Nukleinkörpern keine geformte Substanz, in den großen älteren Kernen aber ein sehr zartes Balkenwerk und in diesem sehr kleine Körnchen, die vielleicht Chromatinkörnchen waren. Nach Überfärben der mit 2prom. Salzsäure behandelten Schnitte in Essigkarmin nach Schneider und Auswaschen mit Essigsäure von 1 Proz. waren in den großen Kernen großer Haarzellen die Chromatinkörper stark gefärbt. Dazwischen befand sich ein schwächer gefärbtes sehr feinmaschiges Gerüstwerk³⁾, das bei schwächerer Vergrößerung eine feingranulierte Masse zu sein schien.

In Präparaten, welche aus Alkoholmaterial nach 24stündiger Einwirkung von 0,3proz. Salzsäure, durch Färbung mit Methylenblau-Fuchsin S, successiver Behandlung mit Wasser, Alkohol, Xylol und Einschluß in Kanadabalsam gewonnen worden waren, hatte sich überall das Zellplasma rot gefärbt. Die Chromatinkörper waren entweder gar nicht zu erkennen oder sie traten farblos, hellblau oder intensiv-

¹⁾ Vgl. Fischer, Fixierung, Färbung u. Bau des Protoplasmas, 1899, p. 311.

²⁾ E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, Ergänzungsband, 1895, p. 221.)

³⁾ Die Untersuchung der Cucurbitazellen nach Salzsäurewirkung erfolgte mit Zeiß Apochrom. 2,0 mm Compens. ocul. 6.

blau gefärbt hervor. In letzterem Falle war der Nucleolus blaurot, sonst rein rot gefärbt. Das Kerngerüst erschien stets rot. Bei direkter Beobachtung der Einwirkung des Farbstoffes färbten sich Zellplasma, Kerngerüst und Nukleolen sofort rein rot, während die Chromatinkörper zunächst als farblose Körper kenntlich blieben oder durch das intensiv gefärbte Gerüst verdeckt wurden.

Nach 24stündiger Behandlung des Kernes eines jungen Siebröhrengliedes mit künstlichem Magensaft traten die Chromatinkörper sehr scharf und glänzend hervor, der große Nucleolus war sehr blaß und gequollen, das Gerüst nicht zu erkennen.

Die Wirkung destillierten Wassers wurde an frischen Kernen verletzter Haarzellen beobachtet. Zunächst traten Chromatinkörper und Nukleolen sehr scharf hervor, dann verblaßten und verschwanden die ersteren, während der Nucleolus unregelmäßige Gestalt und ungleichmäßige innere Beschaffenheit erhielt; unter Umständen sonderte er sich in mehrere glänzende Stücke. Endlich sank der Kern faltig zusammen, nachdem er in manchen Fällen geplatzt war. Nachdem die Schnitte 24 Stunden unter Deckglas in Wasser gelegen hatten, waren die Nukleolen unverändert, die Kerne enthielten fein granuliert Substanz, schwollen aber dann auf Zusatz von Essigkarmin an, auch die Nukleolen quollen ohne sich zu färben, während die Chromatinkörper schön gefärbt hervortraten. Schnitte aus dem Hypocotyl des Keimlings zeigten ebenso auf Zusatz von Essigkarmin, nachdem sie 24 Stunden in einem Gefäß mit destilliertem Wasser gelegen hatten, selbst in geplatzten Kernen angeschnittener Zellen die Chromatinkörper wohl erhalten.

Die Kerne der Zellen, welche zu Siebröhrengliedern werden, wie auch die Kerne der Zellen, welche die entwickelten Siebröhren umgeben, sind durch sehr große Nucleoli ausgezeichnet. Letztere färben sich bei Blutlaugensalzeisenchloridbehandlung (vgl. p. 191) sehr intensiv, während die übrige Kernmasse nur hellgefärbt erscheint. Bei genauerer Untersuchung erkennt man in den Nucleolis einige intensiv blau gefärbte Körperchen, welche einer Grundmasse eingebettet sind, die gar nicht gefärbt zu sein scheint.¹⁾

Die Zellkerne von *Urtica dioica* ähneln im Bau sehr jenen von *Cucurbita*. Nach Färbung mit Diamant-Fuchsin-Jodgrün zeigen sie rote Nukleolen und kleine blaue oder violette Chromatinkörper, welche einer roten Grundmasse eingebettet sind. Nach Erwärmen von Alkoholmaterial mit Essigkarmin treten die Chromatinkörper sehr scharf hervor.

¹⁾ E. Zacharias, Über den Inhalt der Siebröhren von *Cucurbita* Pepo. (Bot. Ztg., 1884, p. 72.) Die Chromatinkörper habe ich hier noch nicht berücksichtigt.

Wie bei *Cucurbita* finden sich auch in den vergrößerten Kernen des Endosperms keimender Samen von *Ricinus*¹⁾ kleine isolierte Chromatinkörper, welche hier in beträchtlichen Abständen voneinander, namentlich in der Peripherie der Kerne angeordnet sind. Nach dem Erwärmen von Schnitten aus Alkoholmaterial unter Deckglas in Essigsäure (1 Vol. konzentrierte Essigsäure + 1 Vol. destillierten Wassers) traten die kleinen Chromatinkörper sehr scharf hervor, während die Nukleolen quollen.

Nach der Behandlung von Alkoholmaterial mit künstlichem Magensaft waren die Nukleolen sehr zart, blaß und substanzarm geworden.

In frischen Schnitten aus den Blättern von *Primula sinensis*²⁾ zeigten sich bei der Untersuchung in 0,3proz. Salzsäure der Kernwandung anliegende Chromatinkörper von scharf umschriebenem, glänzendem Aussehen. An Schnitten, welche 20 Stunden in der verdünnten Salzsäure gelegen hatten, darauf successive auf kurze Zeit in Wasser, Methylenblau-Fuchsin S, absoluten Alkohol, Xylol gebracht und schließlich in Canadabalsam eingeschlossen worden waren, traten die Chromatinkörper intensiv blau gefärbt hervor, die sonstigen plasmatischen Inhaltsbestandteile der Zellen hatten schön rote Färbung angenommen.

„Die großen Kerne des Parenchyms junger Blätter und Stengel von *Ranunculus Lingua*³⁾ enthalten zwei bis mehrere Nucleoli. Nach Behandlung mit künstlichem Magensaft und darauf folgender Alkoholextraktion bleiben diese Kerne als blasige, gelbglänzende Körper zurück. Die Nucleoli liegen als kleine glänzende Körperchen in Hohlräumen der Kernmasse, welche von ihnen nicht vollständig ausgefüllt werden. Der Rest des Zellplasmas ist ziemlich bedeutend, glänzend aber farblos, ohne den gelblichen Ton des Kernes.

Diese Verdauungsrückstände zeigen gegen destilliertes Wasser, verdünnte Salzsäure, konzentrierte Essigsäure und verdünnte Kalilauge dasselbe Verhalten wie die *Tradescantiakerne* (vgl. p. 196). Destilliertes Wasser, verdünnte Salzsäure, konzentrierte Essigsäure lassen alles unverändert, verdünnte Kalilauge löst den gesamten Zellinhalt.

Verdünnte Sodalösung läßt zuerst den Kern verblassen und aufquellen. Gleichzeitig treten die Nucleoli scharf konturiert hervor, die Plasmareste bleiben noch kurze Zeit scharf. Dann quellen diese, und die Nucleoli verschwinden. Man erkennt jetzt lediglich eine

¹⁾ E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen, l. c., p. 229.

²⁾ E. Zacharias, Über einige mikrochemische Untersuchungsmethoden. (Ber. der deutschen botan. Gesellsch., 1896, p. 278.)

³⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Bot. Ztg., 1881.)

blasse gequollene Hohlkugel, den Plasmarest, innerhalb dessen keinerlei Spuren des Kernes zu entdecken sind. Nach 24stündiger Einwirkung der Sodalösung ist keine weitere Veränderung bemerkbar. Auf Zusatz einer Lösung von Jod in Jodkalium färben sich die Plasmareste braun. Läßt man nun verdünnte Salzsäure zu dem Präparate treten, so werden auch die Kerne als sehr unregelmäßig gestaltete braune Körper wieder sichtbar. In gleicher Weise reagierten die Verdauungsrückstände auf eine Lösung von phosphorsaurem Natron.

Konzentrierte Salzsäure löst den Kern bis auf einen sehr blassen, zarten Rest, in welchem man die Nucleoli noch erkennen kann.

24stündige Behandlung der Verdauungsrückstände mit Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration führt zu folgendem Resultat: 0,5 und 1,5 Proz. Die Plasmareste sind ein wenig, der Kern ist stark gequollen. Seine Masse besteht aus Teilen verschiedener Lichtbrechung und enthält Vakuolen, welche von je einem blaß und gequollen aussehenden Nucleolus nicht vollständig ausgefüllt werden. 10proz. Plasmareste nicht gequollen, Beschaffenheit des Kernes wie vorstehend angegeben, nur daß die Nucleoli deutlicher hervortreten. In der Kälte gesättigte Lösung. Die Plasmareste sind nicht gequollen. Auch der Kern zeigt keine merkliche Volumvergrößerung, hat aber den gelblichen Ton verloren und besteht aus feinem, weiß glänzendem Netzwerk. Die Nucleoli sind sehr scharf umschrieben und füllen auch hier die Vakuolen der Kernmasse, in welcher sie liegen, nicht vollständig aus.“

Werden frische grüne Gewebe der Blätter von *Sambucus nigra*¹⁾ in der p. 191 geschilderten Weise mit Blutlaugensalz, Alkohol, Eisenchlorid behandelt und dann noch zur Entfernung der Chlorophyllreste mit absolutem Alkohol extrahiert, so sind die Chlorophyllkörner schön blau gefärbt, in den Zellkernen besonders die Nucleoli, während im Zellprotoplasma eine deutliche Blaufärbung nicht wahrgenommen werden kann. Wurden dieselben grünen Gewebe frisch mit künstlichem Magensaft, sodann mit Alkohol behandelt, darauf zur Zerstörung der Stärkeeinschlüsse mit Wasser zum Sieden erhitzt und schließlich mit einer Lösung von Jod in Jodkali gefärbt, so erscheinen die Residua der Chlorophyllkörner substanzarm und klein im Vergleich mit Chlorophyllkornresten solcher Gewebe, die nicht mit Magensaft, übrigens aber in gleicher Weise behandelt worden sind.²⁾ Kochsalzlösung von 10 Proz. veranlaßt keine Quellung der in Magensaft und Alkohol unlöslichen Chlorophyllkornreste. Im Gegenteil treten letztere schärfer hervor, erhalten jedoch auf Zusatz von stark verdünnter

¹⁾ E. Zacharias, Über Eiweiß, Platin und Nuklein. (Bot. Ztg., 1883, p. 212.)

²⁾ Vgl. Haberlandt, Über die Plasmahaut der Chloroplasten in den Assimilationszellen von Selaginella. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1905, p. 444.)

Salzsäure ein blasses, gequollenes Aussehen. Nach Behandlung mit Blutlaugensalz usw. tritt an diesen Resten noch eine schwach bläuliche Färbung auf.

Bei *Pinguicula vulgaris*¹⁾ fand ich nach dem Einlegen frischer Schnitte in Wasser, daß die Kristalloide im Zellkern verquellen, während der Nucleolus deutlich wird, ohne Quellungserscheinungen zu zeigen. Auch in 0,2proz. Salzsäure verquellen die Krystalloide, während der Nucleolus noch als blasser Körper kenntlich bleibt.

Mikrochemische Angaben über Kryptogamenzellen liegen vor für: *Ceratopteris*, *Chara*, *Spirogyra*, *Mesocarpus*, *Volvox*, *Saccharomyces*, *Cyanophyceen*.

In den Kernen der Prothallien von *Ceratopteris thalictroides*²⁾ quollen die Nukleolen auf Zusatz von Essigsäure-Fuchsin S-Glauber-salzlösung (vgl. p. 182) zu lebendem Material nicht. Sie färbten sich intensiv.

In den älteren Teilen der Wurzelhaare von *Chara* bildet das Plasma bekanntlich einen Wandbelag, welcher lebhaftere Strömungserscheinungen zeigt, während am fortwachsenden Ende der Schlauch vollständig von Plasma erfüllt ist, welches sich in relativer Ruhe befindet.³⁾ Im strömenden Plasma schwimmen 1. zahlreiche längliche, blasse Körper differenter Gestalt und Größe, außerdem werden 2. kleinere, glänzendere Körperchen, meist Bakterienstäbchen vergleichbar, und 3. vereinzelte größere Körper verschiedener Art mitgeführt. Die blassen, länglichen Körper färben sich in Jodjodkaliumlösung braun, in Millon's Reagens rot. Es färbt sich in beiden Reagentien die gesamte Plasmamasse, dabei kann nicht sicher entschieden werden, ob Grundmasse und eingelagerte Körper gleichartig gefärbt sind, oder ob etwa die Färbung der letzteren Vorzugsweise die Färbung des Ganzen bedingt. Hier und da schien letzteres der Fall zu sein. In künstlichem Magensaft sind die Körper der Hauptmasse nach nicht löslich. Sie sehen nach der Behandlung mit Magensaft blaß und etwas gequollen aus.

¹⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 275.)

²⁾ E. Zacharias, Beitr. zur Kenntn. der Sexualzellen. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1901, p. 381.)

³⁾ E. Zacharias, Über Kern- und Zellteilung. (Bot. Ztg., 1888.) Vgl. die ausführlicheren Angaben über den Bau des Protoplasmas von *Chara*, *Hydrocharis* sowie die citierte Literatur. Ferner: E. Zacharias: Über Entstehung und Wachstum der Zellhaut. (Pringsheim's Jahrbücher, 1889.) Über das Wachstum der Zellhaut bei Wurzelhaaren. (Flora, 1891, p. 475.) Referat über Frank Schwarz. (Bot. Ztg., 1887, p. 580.)

Die Zellkerne der Chararhizoiden enthalten große Nukleolen¹⁾, deren Reaktionen denjenigen der Nukleolen von *Galanthus* entsprechen. Durch Magensaft wird ein bedeutender Teil der Nukleolarsubstanz extrahiert, worauf ein substanzarmes Gerüst zurückbleibt, welches Chromatinreaktionen nicht zeigt.

Auch die Nukleolen von *Spirogyra* unterscheiden sich in ihrem Verhalten gegen Reagentien, insoweit das bisher untersucht worden ist, nicht irgendwie wesentlich von den *Galanthus*nukleolen.²⁾

Die Kerne von *Spirogyra* quellen stark in Wasser, sobald man die Zellen durch Druck auf das Deckglas verletzt. Der Kern schwillt sofort mächtig auf und erscheint dabei homogen. Der Nucleolus bleibt ungequollen, scharf begrenzt³⁾, die Chlorophyllbänder verlieren ihre scharfen Konturen, dann sinkt der Kern wieder zusammen, das Plasma wird glänzend und erscheint nicht gequollen. Nach 24 Stunden war in einem näher geprüften Falle der Nucleolus noch unverändert scharf umschrieben. Auf Zusatz von Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin-S-Lösung färbten sich Nucleolus und Pyrenoide intensiv, ohne zu quellen.⁴⁾ Auch in *Mesocarpus*fäden⁵⁾, welche lebend in die Glaubersalzlösung gelangten, färbten sich die Pyrenoide ohne zu quellen. Dasselbe Verhalten zeigten die Pyrenoide von *Volvox aureus*. Hier wurden durch die Lösung auch die Cilien und Plasmaverbindungen vortrefflich konserviert und schließlich intensiv gefärbt. Nach 24stündiger Einwirkung von Magensaft auf Alkoholmaterial ist von den Pyrenoiden bei *Spirogyra* meist nichts mehr zu erkennen, man glaubt in den Resten der Chlorophyllbänder Hohlräume zu sehen, die keine feste Substanz enthalten. Auch nach Zusatz von Jod in Wasser konnte ich meist keine Reste der Pyrenoide wahrnehmen. In einzelnen Fällen allerdings glaubte ich äußerst zarte derartige Reste zu erkennen. Werden *Spirogyren* frisch in destilliertem Wasser

¹⁾ Über Konsistenz, Gestaltsveränderungen und Verschmelzungen dieser Nukleolen in lebenden Zellen vgl. E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 278). Die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft, 1902, p. 320.) Berthold, Studien über Protoplasmanechnik. Leipzig 1886, p. 49.

²⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 273.) Dasselbe gilt von den Nukleolen der Kerne in den Ascis von *Peziza cinerea* und *vesiculosa*. Vgl. ferner: E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft, 1902, p. 316.) Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Ebenda, 1898, p. 197.)

³⁾ Vgl. Meunier, Le nucléole de *Spirogyra*. (La Cellule, T. III, 3. Fasc., 1887, p. 346.)

⁴⁾ Troendle (Über die Copulation und Keimung von *Spirogyra*, Bot. Ztg., 1907, p. 201) teilt mit, daß sich bei verschiedenen Färbungsverfahren die Nukleolen und Pyrenoide gleichartig verhalten.

⁵⁾ E. Zacharias, Beitr. zur Kenntn. der Sexualzellen. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft, 1901, p. 380.)

unter Deckglas erhitzt, so treten die Pyrenoide sehr scharf als glänzende eckige Körper hervor, man nimmt hingegen nichts von ihnen wahr, wenn vor dem Erhitzen mit Wasser das Material einer 24stündigen Verdauung ausgesetzt worden ist. Auch wenn man Spirogyren frisch mit 0,2proz. Salzsäure behandelt, verquellen die Pyrenoide. Zur Untersuchung wurden meist Spirogyren verwendet, die durch Kultur bei Lichtabschluß von Stärke befreit waren und daher die Pyrenoide sehr deutlich erkennen ließen.

In den Nukleolen von Spirogyra war nach Behandlung von frischem oder Alkoholmaterial mit Magensaft oder verdünnter Salzsäure keine Spur von Chromatinkörpern zu erkennen.¹⁾ Läßt man Salzsäure von 0,2 Proz. auf Alkoholmaterial einwirken, so quillt der Nucleolus zu einem äußerst blassen Körper auf, in welchem sich keine Spur von Chromatinkörpern nachweisen läßt. Hingegen erkennt man in der den Nucleolus umgebenden Kernmasse ein sehr feines glänzendes Gerüst. Durch Essigkarmin wird der Nucleolus von Spirogyra stärker gefärbt als derjenige von Galanthus und anderer daraufhin von mir geprüfter Pflanzen, auch sieht der Nucleolus von Spirogyra nach der Färbung nicht homogen aus, ein scharf hervortretendes, mit einem Chromatingerüst vergleichbares Fadenwerk ist jedoch nicht zu erkennen.

In einer Mischung von Jodgrün und Diamantfuchsin färbt sich der Nucleolus von Spirogyra rot, wie derjenige von Galanthus. In der umgebenden Kernmasse erscheint ein blau bis blaugrün gefärbtes Netzwerk, der übrige Zellinhalt färbt sich violettrot in verschiedenen Farbentönen.

Die Zellen der Cyanophyceen²⁾ bestehen, abgesehen von ihrer Wandung, aus einem farblosen Centralkörper und einem diesen umgebenden gefärbten, peripheren Plasma. Über die Art der Verteilung des Farbstoffes in letzterem differieren die Angaben der Forscher. Im peripheren Plasma kommen farblose Körner vor, deren Substanz Borzi „Cianoficina“ genannt hat. Im Centralkörper finden sich die durch bestimmte Reaktionen scharf von den Cyanophycinkörnern geschiedenen „Centralkörner“. Die Angaben über gelegentliche anderweitige Lagerung der Körner bedürfen der Nachuntersuchung. Beiderlei

¹⁾ E. Zacharias, Erwiderung. (Bot. Ztg., 1888, p. 90.) Bericht über Untersuchungen von Dudley.

²⁾ E. Zacharias, Über die Zellen der Cyanophyceen. (Bot. Ztg., 1890.) — Über die Cyanophyceen. (Abhandl. aus dem Gebiete der Naturwissenschaften, herausgeg. vom naturwissensch. Verein Hamburg, Bd. XVI, 1900.) — Über die Cyanophyceen. (Jahrbuch der Hamburgischen wiss. Anstalten, XXI, 3. Beiheft: Arbeiten der botanischen Institute, 1904.) — Über die neuere Cyanophyceenliteratur. (Bot. Ztg., 1907.) — Eingehende Besprechungen und Zusammenfassungen der Literatur des Gegenstandes sind in diesen Schriften enthalten.

Körner können in verschiedenen Zellen derselben Species in sehr wechselnden Mengen vorkommen, sie können auch ganz fehlen. Ihr Auftreten oder Fehlen und ihre Menge und Größe kann durch die Art der Kultur beeinflusst werden.

Nach Fischer¹⁾ sollen im Centralkörper außer den Centrakörnern noch besondere weißglänzende Massen vorkommen, welche aus einem Kohlehydrat bestehen.

Über die chemische Beschaffenheit des Centralkörpers gestatten die bisherigen Untersuchungsergebnisse, wenn man von seinen Einschlüssen absieht, noch keine bestimmteren Angaben. Das periphere Plasma der untersuchten Cyanophyceen entspricht, soweit geprüft, in seinem Verhalten gegen Reagenzien dem Zellplasma anderer Pflanzen. Es besteht seiner Hauptmasse nach aus einer Substanz, welche in Magensaft unlöslich, nach Einwirkung des Magensaftes in stark verdünnter Salzsäure und in Sodalösung quellbar, in konzentrierterer Salzsäure und in 10proz. Kochsalzlösung nicht quellbar ist (Plastin).²⁾

Von den Einschlüssen der Cyanophyceenzelle sind hier die Centrakörner zu besprechen, welche zu den Chromatinkörpern der Zellkerne anderer Organismen in Beziehung gesetzt worden sind. Die bisher angestellten Vergleiche ergaben in manchen Reaktionen Übereinstimmung, in anderen nicht (vgl. meine Angaben 1900, p. 27 ff.) Eigentümlich ist den Centrakörnern die schwarzblaue Färbung durch Methylenblau, welche die Chromosomensubstanz daraufhin untersuchter Zellkerne nicht zeigt (1900, p. 31).

Schon früher habe ich nachgewiesen, daß Methylenblau gegenüber verdünnter Salzsäure stärker von den Centrakörnern festgehalten wird, als von anderen Teilen der Cyanophyceenzellen (1900, p. 30 u. a. a. O.). Hier mag nun weiter ein Versuch mitgeteilt werden, aus welchem das abweichende Verhalten der Chromosomensubstanz zu ersehen ist: Blattepidermis von *Tradescantia pilosa* und lebende Oszillarien gelangten auf einige Tage in absoluten Alkohol und wurden darauf mit Methylenblau überfärbt. Nach dem Einlegen in Salzsäure von 1prom. Konzentration verblaßten die *Tradescantia*-kerne langsam, nach $\frac{1}{2}$ Stunde waren sie zum Teil, nach 24 Stunden alle völlig entfärbt. In den Oszillarienzellen traten im Beginn der Salzsäurewirkung die Centrakörner (auch die allerkleinsten) sofort scharf in tief blauschwarzer Färbung hervor. Eine Veränderung trat im Laufe einer halben Stunde nicht ein. Nachdem das Oszillarienmaterial 24 Stunden in einer Glasdose mit 1prom. Salzsäure gelegen hatte, zeigten sich sämtliche Centrakörner noch tief gefärbt in dem übrigens entfärbten Zellinhalt.

¹⁾ A. Fischer, Die Zelle der Cyanophyceen. (Bot. Ztg., 1905.)

²⁾ E. Zacharias, l. c., 1890.

Bei der Entfärbung der Tradescantiakerne in Salzsäure treten blauschwarze Körper nicht hervor. Die ganze Kernmasse erscheint himmelblau und verblaßt dann mehr und mehr. Weitere Verschiedenheiten zwischen Chromosomen- und Centralsubstanz teilt Fischer mit (p. 85, 95). Die Centralkörner färben sich nicht mit Jodjodkalium oder Chlorzinkjod, während Chromosomen von *Lilium* sich darin intensiv gelb färben. Ferner versagen die Centralkörner gegenüber Karminlösungen, welche die *Lilium*chromosomen intensiv färben.

Ist demnach die Centralsubstanz von der Substanz der bisher geprüften Chromosomen irgendwie verschieden, so ist doch das Vorhandensein gewisser chemischer Beziehungen zwischen beiden nicht ausgeschlossen. Für die Verdauungsrückstände der Centralkörner und der Chromosomensubstanz ergab sich bei meinen Versuchen (1890 u. a. a. O.) eine Übereinstimmung, welche es möglich erscheinen läßt, daß die Centralkörner Nukleinsäure enthalten.

Arthur Meyer¹⁾ stellt ihre Substanz den von ihm unter dem Namen Volutin zusammengefaßten Zelleinschlüssen verschiedener Organismen an die Seite.

Besonders eingehend hat Meyer das Bakterienvolutin mikrochemisch untersucht und mit der Hefenukleinsäure verglichen. In einer Anzahl von Reaktionen fand sich Übereinstimmung, in anderen nicht. Meyer (p. 121) ist der Meinung, daß das Bakterienvolutin keine freie Nukleinsäure sein könne, hält es aber für nicht unwahrscheinlich, daß es eine Nukleinsäureverbindung sei. Die Hefenukleinsäure kann nach Meyer (p. 120) möglicherweise dem Volutin der Hefe entstammen. Das ist gewiß möglich. Es ist indessen auch, wie ich bereits 1893²⁾ hinsichtlich der Hefe ausgeführt habe, „wenn man die Art der Darstellung der Nukleinpräparate in Betracht zieht, sehr wohl möglich, daß sie zum Teil aus den mit Nukleinreaktionen begabten Körpern, zum Teil aus dem Plastin des Zellinhaltes hervorgegangen sind“.

Inwieweit das Bakterienvolutin mit der Substanz der Centralkörner übereinstimmt, ist nicht sicher, wenn auch für eine Anzahl von Reaktionen, wie A. Meyer (p. 135) zeigt, Übereinstimmung besteht. Die Centralkörner lösen sich jedoch nicht in Pepsinsalzsäure, wie es für das Bakterienvolutin angegeben wird. Ob die Resultate Grimme's³⁾, auf welche Meyer hier verweist, mit den meinigen

¹⁾ Arthur Meyer, Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. (Bot. Ztg., 1904.)

²⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1893, p. 302.) Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Ebenda, 1901, p. 391.)

³⁾ Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. (Marburger Dissertation, 1902.)

vergleichbar sind, ist allerdings zweifelhaft, da die Salzsäurekonzentration in den von Grimme (p. 33) und mir verwendeten Verdauungslösungen nicht übereinstimmt.

Die Unlöslichkeit der Centralkörner in Pepsinsalzsäure habe ich bereits im Jahre 1890 (vgl. Fig. 16 u. a. a. O.) festgestellt. Nach Behandlung mit Pepsinsalzsäure erhalten die Centralkörner ein eigentümlich glänzendes Aussehen, entsprechend demjenigen, welches nukleinsäurehaltige Kernbestandteile bei gleicher Behandlung anzunehmen pflegen.

Ob eine Verschiedenheit zwischen Bakterienvolutin und Centralsubstanz hinsichtlich des Verhaltens gegen heißes Wasser besteht, bedarf noch weiterer Prüfung. Bakterienvolutin wird nach Meyer (p. 119) von 80° heißem Wasser nach 5—10 Minuten gelöst. Kochendes Wasser löst immer binnen 5 Minuten (p. 117), aber Centralkörner von *Nostoc* lösen sich nach Meyer bei 4 Minuten langem Kochen (p. 134). Auch nach Kohl¹⁾ (p. 22) löst kochendes Wasser die Centralkörner. Fischer hingegen fand die Centralkörner in kaltem und heißem Wasser unlöslich (p. 91, 101, 103). Letzteres kann ich bestätigen:

Lebende Oscillarien wurden in kochendes destilliertes Wasser eingetragen und 10 Minuten darin belassen. Darauf gelangten sie gleichzeitig mit frischen, nicht gekochten Oscillarien in absoluten Alkohol. Nach 24 Stunden wurde mit Methylenblau²⁾ gefärbt und darauf Salzsäure von der Konzentration 1 prom. zugesetzt. In den nicht gekochten Oscillarien entfärbten sich nun die Zellinhalte bis auf die Centralkörner, welche intensiv gefärbt hervortraten; das gekochte Material zeigte zwar keine gefärbten Centralkörner, wohl aber waren dort ungefärbte Körper zu erkennen, die nach Gestalt, Lagerung und Aussehen für Centralkörner gehalten werden mußten. Ein zweiter Versuch ergab dasselbe Resultat. Die Centralkörner werden also durch das Kochen in Wasser irgendwie verändert, nicht aber gelöst.

Eine Nachprüfung des Verhaltens von Bakterienvolutin gegen heißes Wasser mit den für die Centralkörner benutzten Methoden ist erwünscht. Eine eingehendere Behandlung der Literatur des Bakterienvolutins, des Hefenvolutins und etwa zu diesen in Beziehung stehender Substanzen würde den Rahmen dieser Darstellung überschreiten.³⁾

¹⁾ Kohl, Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle. Jena 1903.

²⁾ Vgl. E. Zacharias, 1900, p. 46.

³⁾ Vgl. u. a. Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. I, Jena 1904 bis 1907.

In einer Reihe von Arbeiten hat sich namentlich Guillermond¹⁾ mit dem Gegenstande beschäftigt. Leider ist hier wie auf manchen anderen Gebieten durch Einführung verschiedener Namen für dieselben Dinge die Nomenklatur recht verwickelt worden, wodurch mancherlei Mißverständnisse und Unklarheiten in die Beschreibungen, insbesondere der Cyanophyceenzelle, hineingetragen worden sind. Auch hier ist Buffon's²⁾ Ausspruch anwendbar: „Le langage de la science est plus difficile à connaître que la science elle-même.“

Zusammenfassung der Untersuchungen über somatische Zellen.

Soweit die vorliegenden Untersuchungen reichen, sind allgemein zu unterscheiden: 1. Die Chromatinmassen, die bei den untersuchten Zellen lediglich im Zellkern, hier aber in sehr verschiedenartiger Menge und Gestaltung auftreten. 2. Die Nukleolen. 3. Die Grundmasse des Zellkernes, d. h. diejenige Substanz, welche, abgesehen vom Chromatin und den Nukleolen im Zellkern vorkommt. 4. Das Zellprotoplasma. 5. Die Chromatophoren.

Jeder dieser Zellbestandteile zeigt bei allen untersuchten Organismen in seinem Verhalten gegen bestimmte Reagenzien gewisse gemeinsame Züge. Außer den gemeinsamen Eigenschaften sind aber auch schon einzelne Verschiedenheiten bemerkt worden, deren sich voraussichtlich bei weiterer Vertiefung der Untersuchungen noch andere finden werden.

¹⁾ Guillermond, Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes levures. (Thèses présentées à la Faculté des Sciences de Paris. Lyon. A. Starck et Cie., 1902.) An diese Arbeit haben sich dann eine Reihe weiterer Publikationen desselben Autors über die Hefe- und Bakterienzelle (vgl. u. a. La Cytologie des Bactéries. Extrait du Bulletin de l'institut Pasteur, tome IV, No. 7 et 8, 15 avril, 30 avril 1907) angeschlossen. Vgl. auch Kohl, Die Hefepilze (Leipzig 1908), woselbst viel Literatur zusammengestellt ist. Der wichtigen Arbeit von Arthur Meyer über das Volutin wird merkwürdigerweise die ihr gebührende Berücksichtigung nicht zuteil. Beziehungen des Volutins zu den Globoiden der Samen haben Guillermond und Beauverie (Guillermond, Recherches cytologiques sur la germination des graines de quelques graminées et contribution à l'étude des graines d'aleurone. Archives d'anatomie microscopique, T. X, 1908, a. a. O. sind noch weitere Arbeiten der genannten Autoren über denselben Gegenstand erschienen) finden wollen. Ihre Bestrebungen sind indessen von Kimpflin und Chiffhot einer abfälligen Kritik unterzogen worden. (Kimpflin, Remarque sur la forme attribuée aux corpuscules métachromatiques. — Association française pour l'avancement des Sciences, Congrès de Lyon, 1906. — Chiffhot et Kimpflin, A propos des Globoïdes des graines d'aleurone. Ebenda, Congrès de Reims, 1907.)

²⁾ Chiffhot et Kimpflin, l. c., p. 535.

Daß solche Vertiefung noch durchaus fehlt, die vorhandenen Beobachtungen noch so überaus lückenhaft sind, ist eine Folge der Abneigung, welche die Zellenforscher im allgemeinen bisher der Betätigung auf chemischem Gebiete entgegengebracht haben.

Ich habe es absichtlich unterlassen, die beobachteten Reaktionen, wie das in dergleichen Fällen wohl üblich ist, in einer Tabelle zusammenzustellen, da nur aus einer eingehenden Beschreibung des Verlaufes der mikrochemischen Reaktionen die zur Kennzeichnung und Unterscheidung der hier in Betracht kommenden Stoffe maßgebenden Eigentümlichkeiten entnommen werden können.

Auch der folgende Versuch einer Zusammenfassung einiger Reaktionen ist nicht etwa geeignet, den Leser, der sich ein zutreffendes Urteil über den Sachverhalt bilden will, von der, allerdings ermüdenden, Lektüre der ausführlichen Darstellung zu befreien. Hier ist u. a. auch nachzusehen, inwieweit in den einzelnen Fällen nur Alkoholmaterial, nur frisches oder beides geprüft worden ist, und auf welche Objekte überhaupt im einzelnen die Versuche ausgedehnt worden sind.

Zusammenfassung der Reaktionen: 1. Die Chromatinmassen quellen nicht, treten im Gegenteil scharf begrenzt und glänzend hervor bei der Behandlung mit Salzsäure von der Konzentration 0,1 bis 0,3 Proz. oder mit künstlichem Magensaft. Nach der Behandlung mit verdünnter Salzsäure oder Magensaft färben sie sich in einem Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S blau, Frisch oder nach Behandlung mit Alkohol, verdünnter Salzsäure oder Magensaft in Methylgrünessigsäure eingetragen, färben sie sich intensiv grün, ohne zu quellen, desgleichen färben sie sich nach entsprechender Behandlung mit Essigkarmin.

Nach verschiedenartiger Vorbehandlung werden die Chromatinmassen gelöst von konzentrierterer Salzsäure und verdünnter Kalilauge, zur Quellung gebracht durch ammoniakalische Karminlösung, Glaubersalzlösung und Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration. Verdünnte Sodalösungen wirken in verschiedener Konzentration in differentem Grade quellend und lösend.

Destilliertes Wasser, auf frisches Material einwirkend, läßt die Chromatinkörper aufquellen, ohne sie zu lösen, nur bei Phajus blieb es unentschieden, inwieweit etwa Lösung stattgefunden habe.

2. Die Nukleolen quellen bei der Einwirkung verdünnter Salzsäure, desgleichen in Magensaft. Von Magensaft werden sie bis auf größere oder geringere Reste gelöst. Sie quellen, ohne sich zu färben, auf Zusatz von Essigkarmin.

Methylgrünessigsäure, auf frisches, verdautes oder Alkoholmaterial einwirkend, färbt sie nicht. Nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure färben sie sich rot in einer Mischung von Methylenblau und Fuchsin S. Sie quellen nicht in Glaubersalzlösung mit und ohne

Essigsäurezusatz und färben sich in Glaubersalz-Essigsäure-Fuchsin S-Lösung. Sie quellen nicht und färben sich gut in ammoniakalischer Karminlösung.

Sie quellen nicht in destilliertem Wasser (vgl. indessen *Triticum*), 10proz. Kochsalzlösung (vgl. indessen *Galanthus*).

Die Verdauungsreste werden von höher konzentrierter Salzsäure nicht gelöst.

3. Die Grundmasse des Zellkernes quillt in verdünnter Salzsäure und Magensaft, färbt sich nicht in Essigkarmin, Methylgrünessigsäure (nach Behandlung mit Magensaft), quillt in verdünnter Kalilauge und wird dann beim Erwärmen zerstört, desgleichen verschwindet sie, wenn $\frac{1}{2}$ proz. Kalilauge, $\frac{1}{2}$ oder 1proz. Soda auf die nach der Verdauung zurückbleibenden Reste einwirken.

In Salzsäure von höherer Konzentration bleibt die Grundmasse gut erhalten. Das gilt auch für die Verdauungsreste.

Nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure färbt sie sich in einem Gemisch von Methylenblau und Fuchsin S rot. Sie quillt nicht und färbt sich blau nach Einwirkung von methylgrünessigsäurehaltiger Glaubersalzlösung auf frisches Material. Sie quillt nicht in Glaubersalzlösung und 10proz. Kochsalzlösung.

4. Das Zellprotoplasma quillt in verdünnter Salzsäure, nicht aber in Glaubersalzlösungen. Es färbt sich in Essigkarmin verschwommen, schwach oder gar nicht. Nach der Behandlung mit verdünnter Salzsäure färbt es sich rot in Methylenblau-Fuchsin S.

In Magensaft quillt das Zellplasma, bleibt aber im wesentlichen ungelöst. Die Verdauungsrückstände erscheinen in verdünnter Salzsäure blaß und glanzlos, quellen nicht in Salzsäure von höherer Konzentration, Kochsalzlösungen, färben sich hellrosa bis rot in Methylenblau-Fuchsin S, quellen oder lösen sich in Sodalösungen verschiedener Konzentration und werden von $\frac{1}{2}$ proz. Kalilauge gelöst.

5. Die Chromatophoren. Die Leukoplasten der Epidermiszellen verquellen in verdünnter Salzsäure, Methylgrünessigsäure; desgleichen bis auf geringe Reste in Magensaft, 10proz. Kochsalzlösung und destilliertem Wasser.

Sie färben sich in Methylenblau-Fuchsin S rot nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure. Sie quellen nicht und färben sich blau in Glaubersalmethylgrünessigsäure.

Die Chloroplasten werden bis auf beträchtlichere Reste von Magensaft gelöst. Die Verdauungsreste quellen nicht in 10proz. Kochsalzlösung.

Überblickt man im allgemeinen die Lokalisation der im weitesten Sinne des Wortes zu den Eiweißkörpern gehörigen Stoffe¹⁾, so ergibt

¹⁾ Von den schon behandelten Spermatozoen wird hier abgesehen.

sich, daß in künstlichem Magensaft (bei dem von mir eingehaltenen Verfahren) lösliche Stoffe zu einem wesentlichen Teile die Masse der Nukleolen und Leukoplasten bilden. Übrigens sind diese Stoffe in geringerer Menge verbreitet. Die Hauptmasse der Chromatinkörper besteht aus Kernnuklein (vgl. p. 156), diejenige des Zellprotoplasmas aus Plastin. Übrigens findet sich Plastin noch in den Formbestandteilen des Zellkernes und in den Chromatophoren (vgl. p. 188).

Es muß indessen immer wieder betont werden, daß die Beziehungen der mikrochemisch unterschiedenen Formbestandteile (wenn man von den Spermatozoen absieht) zu den makrochemisch dargestellten Präparaten noch durchaus der weiteren Untersuchung bedürfen (vgl. den Abschnitt über makrochemische Arbeiten p. 85 usw.). Auch die Beziehungen der ersteren zu dem unlöslichen und löslichen Nuklein Miescher's, dem Plastin Reinke's sind noch weiterer Prüfung bedürftig. Die Angaben über Darstellungsweise und Eigenschaften dieser Präparate, namentlich des Plastins von Reinke, sind nicht so bestimmt und detailliert, daß sie als sichere Grundlage für die mikrochemische Forschung dienen könnten.

Das durch verdünnte Sodalösungen von Miescher aus verdauten Eiterzellen gewonnene „lösliche Nuklein“ (vgl. diesen Abschnitt p. 152, 156, 188, den Abschnitt über makrochemische Arbeiten p. 69) kann Substanzen aus den verschiedenen Formbestandteilen des Kernes und aus dem Zellplasma enthalten haben, das „unlösliche Nuklein“ enthielt sicher Kernsubstanzen, wahrscheinlich auch solche aus dem Zellplasma.

Die mikrochemischen Untersuchungen, namentlich der Kerne von Phajus und Triticum, haben gezeigt, daß die Verdauungsreste der Chromatinkörper in verdünnten Sodalösungen löslich sind, sie haben aber ferner gezeigt, daß auch die Verdauungsreste der achromatischen Bestandteile des Zellinhaltes in Sodalösungen nicht unlöslich sind (Triticum), wenn auch letztere der quellenden und lösenden Wirkung der verwendeten Sodalösungen einen größeren Widerstand entgegenzusetzen, so daß stets der Verlauf der mikrochemischen Reaktion scharf hervortretende, charakteristische Unterschiede erkennen läßt. Zu beachten ist, daß die Vorbehandlung der Eiterzellen, welche zum Teil mit der Gewinnung des Materials aus Verbänden zusammenhing, nicht die gleiche war, wie bei den mikrochemisch untersuchten Zellen. Die Löslichkeitsverhältnisse der chromatischen und achromatischen Anteile der von Miescher untersuchten Eiterzellen können also in anderer Weise beeinflußt worden sein, als diejenigen der geprüften Pflanzenzellen.

Es wird demnach die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, auf Grund der vorliegenden Kenntnisse und unter ständiger mikrochemischer Kontrolle eine Methode zur makrochemischen Trennung der

Stoffe auszuarbeiten, welche provisorisch als Kernnuklein und Plastin bezeichnet worden sind.

Das chemische Verhalten der im Zellprotoplasma beobachteten Strukturen ist bisher noch kaum gesondert studiert worden. Die Beziehungen der von mir für *Chara* (p. 215), *Tradescantia* (p. 197, Anm.) usw. beschriebenen Gebilde zu den von Benda, Meves u. a.¹⁾ beobachteten bleiben zu untersuchen.

Für die Kenntnis der flüssigeren Bestandteile des Protoplasmas, des Enchylema Reinke's (p. 74), dürften einige Beobachtungen an Pollenmutterzellen von *Larix* ein gewisses Interesse haben: „Bei der Kontraktion des Protoplasmas verletzter Pollenmutterzellen von *Larix* durch Einwirkung von Zuckerlösung tritt aus dem Plasma eine anscheinend gelöste Substanz in den Raum zwischen Zellhaut und Plasma, welche sich durch Alkohol in Form einer fein granulierten Masse ausfällen läßt, desgleichen durch Pikrinessigschwefelsäure, Essigkarmin nach Schneider, verdünnte Essigsäure, Jodjodkalium. Die Fällung durch letzteres Reagens ist braungelb gefärbt. 0,28proz. Salzsäure bewirkt keine Fällung. Mit Alkohol erzielte Fällungen quellen in 0,28proz. Salzsäure. Verdauungsflüssigkeit löst die Alkohol-fällung nur teilweise. Ob die untersuchte Flüssigkeit nur dem Zellplasma oder auch etwa dem Kern entstammte, ist nicht ermittelt worden. Vakuolen enthielten die verwendeten Pollenmutterzellen nicht.“²⁾

Die chemische Beschaffenheit der Kernteilungsfiguren.

Die Kernteilungsfiguren sind bisher nur an wenigen Objekten mikrochemisch untersucht worden. Die erzielten Resultate mögen zunächst im einzelnen dargelegt werden.

Endospermanlagen von *Iris*.³⁾ Befruchtete Ovula von *Iris versicolor* wurden halbiert und in absoluten Alkohol gebracht.

¹⁾ Vgl. u. a.: Zimmermann, Sammelreferate aus dem Gesamtgebiet der Zellenlehre. (Botan. Centralblatt, Beihefte, Jahrg. III, 1893, p. 215.) Mische, Anlage der Spaltöffnungen einiger Monokotylen. (Botan. Centralblatt, Bd. LXXVIII, 1899, S.-A. p. 18, Fig. 10.) Meves, Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. (Anatomischer Anzeiger, Bd. XXXI, 1907.) Meves, Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemming's. (Ebenda.) Meves, Über das Vorkommen von Mitochondrien bzw. Chondromiten in Pflanzenzellen. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1904, Heft 5.) Meves, Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. (Arch. für mikr. Anat. u. Entwgesch., Bd. 72, 1908.) Die Arbeit enthält eine Literaturzusammenstellung.

²⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1902, p. 308.)

³⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1902, p. 303.)

Später wurden die Endospermanlagen unter Wasser herauspräpariert und in Wasser untersucht. Innerhalb der in Teilung begriffenen Kerne hatten sich die Chromosomen bereits in zwei Portionen gesondert. Der Kernraum¹⁾ zeigte sich im übrigen völlig erfüllt von einer längsfaserigen Masse. Zwischen den Fasern schien noch ganz fein granuliert Substanz vorhanden zu sein, doch war das bei der ungemein dichten Lagerung der Fasern nicht sicher zu erkennen. Nach 24stündiger Behandlung mit Verdauungsflüssigkeit (1 Vol. Glyzerinextrakt aus Schweinemagen + 3 Vol. Salzsäure von der Konzentration 0,28proz. HCl) bei Zimmertemperatur erschienen die Chromosomen glänzend, scharf konturiert, das Plasma war aufgehellt, aber deutlich wabig strukturiert und gegen den Kernraum abgesetzt. In diesem war eine helle, ganz fein granuliert Substanz zu erkennen, von Fasern nur in einem Falle schattenhafte Andeutungen. Eine weitere Veränderung wurde durch mehrtägige Verdauung bei 16 bis 17° R unter Erneuerung der Verdauungsflüssigkeit, deren Wirksamkeit durch Hühnereiweiß geprüft worden war, nicht erzielt. Auch nachträgliches Auswaschen mit Alkohol brachte keine Veränderung des Bildes hervor.

Die Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit auf das frische Objekt wurde in der Weise erreicht, daß halbierte Ovula direkt in die Flüssigkeit eingetragen wurden. Nach 24stündigem Verweilen derselben in der Verdauungsflüssigkeit bei Zimmertemperatur wurden dann die Endospermanlagen aus den Ovularhälften herauspräpariert und in der Flüssigkeit untersucht. Alle Teilungsstadien vor Abgrenzung der Tochterkerne kamen zur Beobachtung. Stets erschienen die Chromosomen glänzend und scharf konturiert, die Kernräume scharf und deutlich gegen die Plasmaresten abgegrenzt, welche in unmittelbarer Umgebung der Kernräume sich in ihrem Aussehen in etwas von den entfernteren Plasmateilen unterschieden. Die Kernräume enthielten keine Spur von Fasern, erschienen überhaupt homogen, ohne Spur von geformter Substanz. Auch in der Umgebung der Kernräume war von Faserstrukturen nichts zu entdecken. Auswaschen mit Alkohol, Behandlung mit Glaubersalz-Essig-Fuchsin S-Lösung förderte keine Fasern zutage.

Andere Endospermanlagen kamen nach 48stündiger Einwirkung der Verdauungsflüssigkeit bei Zimmertemperatur zur Untersuchung. Es fanden sich Stadien mit abgegrenzten Tochterkernen und solche mit auseinanderweichenden Chromosomengruppen. Die letzteren Zustände zeigten im Kernraum, namentlich nach dem Auswaschen mit

¹⁾ „Wenn es sich um Kerne handelt, welche in Teilung begriffen sind und welche ihre membranartige Abgrenzung nicht mehr aufweisen, soll stets der an den jeweilig untersuchten, lebenden oder fixierten Objekten erkennbar abgegrenzte, die Chromosomen enthaltende Raum als „Kernraum“ bezeichnet werden“. l. c. p. 298.

absolutem Alkohol (in diesem untersucht) schwer wahrnehmbare Spuren sehr fein granulierter Substanz. Nach der Färbung mit Fuchsin S-Methylenblau (je 1 Vol. einer Lösung von 0,25 g Farbstoff in 250 ccm Wasser) traten die einzelnen Formbestandteile schärfer hervor, ohne daß Fasern sichtbar wurden. Die Chromosomen waren tief blau, das übrige violett gefärbt. Der Kernraum war von einer sehr feinkörnigen, dichteren Plasmapartie umgeben. Zustände mit abgegrenzten Tochterkernen zeigten den zwischen denselben verbleibenden Mutterkernrest¹⁾ auch nach seiner Trennung von den Tochterkernen durch strukturiertes Zellplasma als einen homogenen Raum ohne geformte Substanz. In anderen Fällen waren einige Körnchen im Mutterkernrest zu sehen und endlich kam es vor, daß derselbe von einzelnen Brücken aus fein granulierter Substanz durchsetzt war. Auswaschen mit absolutem Alkohol und Färbung mit Methylenblau-Fuchsin S veränderte die Bilder nicht.

Die Kernräume der untersuchten, in Teilung begriffenen Kerne enthalten also nach dem Schwinden der membranartigen Abgrenzung, abgesehen von den Chromosomen, eine Substanz, welche nach Einwirkung von Alkohol eine fein granulierte Masse von längsfaseriger Struktur darstellt. Kernnuklein ist in ihr nicht nachgewiesen. In Verdauungsflüssigkeit löst sie sich im Gegensatz zu dem umgebenden Zellplasma bis auf geringe Spuren.

Schnitte aus dem Endosperm von *Pinus sylvestris*²⁾ wurden frisch mit Magensaft, darauf mit Alkohol behandelt und in Essigkarmin untersucht. Dann fanden sich in Kernen, welche das Stadium des Knäuels oder des segmentierten Knäuels zeigten, zwischen den scharf begrenzten, intensiv gefärbten, chromatischen Teilen zarte Strangwerke einer nicht oder nur ganz schwach gefärbten Substanz.

Betrachtet man Pollenmutterzellen von *Hemerocallis fulva*³⁾, deren Kerne sich im Beginn der Teilung befinden, nachdem sie längere Zeit in Alkohol gelegen haben, in Wasser, so findet man die Chromosomen einer fein granulierten Grundmasse eingebettet. Diese letztere ist vielfach nicht gleichmäßig im Kern verteilt, ein Umstand, der möglicherweise eine Folge der Einwirkung des Alkohols ist. Besonders deutlich wird die Grundmasse, wenn die Pollenmutterzellen des Alkoholmaterials mit Salzsäure (4 Vol. reiner konzentrierter Salzsäure + 3 Vol. Wasser), oder wenn sie zunächst mit künstlichem Magensaft und darauf 24 Stunden lang mit 10 proz. Kochsalzlösung behandelt werden. Sie ist häufig an einer Seite des Kernes stärker angesammelt und bildet dann eine der Kernwandung anliegende sehr

¹⁾ Vgl. E. Zacharias, Über Kern- und Zellteilung. (Botan. Ztg., 1888.)

²⁾ E. Zacharias, Beiträge etc. (Bot. Ztg., 1887, p. 332.)

³⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen. (Bot. Ztg., 1887, S.-A., p. 12, 15.)

dichte, fast homogene oder auch fein granulierte Masse, während sie übrigens als feines, den Kernraum durchziehendes Netzwerk auftritt, dessen Maschen sehr eng sein können. Werden die Pollenmutterzellen frisch, ohne vorherige Behandlung mit Alkohol der Verdauung ausgesetzt, dann mit Ätheralkohol extrahiert und in Wasser untersucht, so ist von der Grundmasse nichts zu erkennen. Ebenso wenig konnte die Grundmasse bei *Hemerocallis flava*¹⁾ erkannt werden, nachdem frische Pollenmutterzellen 48 Stunden bei Zimmertemperatur mit künstlichem Magensaft und darauf ebensolange mit absolutem Alkohol behandelt worden waren. Die Untersuchung erfolgte in Alkohol. Der Kern war scharf begrenzt. Er enthielt einen zarten Nukleolarrest und gesonderte Chromosomen, zwischen welchen sich lediglich homogene Flüssigkeit zu befinden schien. Immerhin war es nicht ausgeschlossen, daß Reste der Grundmasse an den Chromosomen hafteten, da diese nicht glatt konturiert erschienen. Beim Übergang des Kernes in den Zustand der Spindel²⁾ (Alkoholmaterial von *H. flava* in Wasser untersucht) bleibt der Kern als deutlich gegen das umgebende Protoplasma der Zelle abgegrenzter Körper bestehen. Allerdings hat man den Eindruck, als ob im ruhenden Zustande der Kern von einer Membran umgeben sei, welche später beim Übergang in das Spindelstadium verloren zu gehen scheint. Im Spindelraum sind die Chromosomen und die Spindelfasern gut zu erkennen. Man sieht hier außerhalb der Chromosomen mehr geformte Substanz als in den vorhergehenden Stadien. In letzteren ist der Kernraum zwischen den Chromosomen nur teilweise mit granulierter Substanz erfüllt, später aber: im Spindelstadium wird der ganze Kernraum von einer längsfaserigen Masse eingenommen. Diese verhält sich, wenn künstlicher Magensaft auf das Alkoholmaterial einwirkt, anders als das Zellplasma. Während die Chromosomen scharf hervortreten, quillt die längsfaserige Masse, so daß nur noch hier und da schattenhafte Andeutungen derselben zu sehen sind. Das Zellplasma hingegen bleibt als deutlich gegen den Kernraum abgegrenzte, nicht homogene Masse von gequollenem Aussehen kenntlich.

Beobachtet man in Teilung begriffene Pollenmutterzellen von *H. flava* frisch in Hühnereiweiß, so grenzt sich der Kernraum vermöge seiner homogenen Beschaffenheit stets deutlich gegen das nicht homogene Zellplasma ab. Nach 48stündiger Einwirkung von 0,28proz. Salzsäure³⁾ auf frische Pollenmutterzellen traten die Chromosomen sehr stark glänzend hervor, im übrigen waren die Kernräume (Spindelzustände) homogen. Die Abgrenzung des Zellplasmas (welches eine blasse

¹⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns, l. c., p. 299.

²⁾ E. Zacharias, Über Kern- und Zellteilung. (Bot. Ztg., 1888.)

³⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile usw. (l. c., p. 303.)

Struktur erkennen ließ und glänzende Körnchen oder Tröpfchen enthielt) gegen die homogenen Kernräume war durchaus deutlich. Die Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit (1 Vol. Glycerinextrakt aus Schweinemagen + 3 Vol. Salzsäure von der Konzentration 0,28proz. HCl) auf frische, im Spindelzustand befindliche Pollenmutterzellen wurde folgendermaßen untersucht: Das Material blieb zunächst 48 Stunden, und sodann nach Erneuerung der Flüssigkeit weitere 24 Stunden bei etwa 22° R in derselben. Die Chromosomen erschienen dann, wenn in der Verdauungsflüssigkeit untersucht wurde, stark glänzend; außerdem waren in den Kernräumen äußerst zarte, substanzarme Fasern undeutlich wahrzunehmen, indessen kam auch ein Fall mit stärkeren Faserresten zur Beobachtung. Nach Auswaschen mit verdünnter Essigsäure (1 g Eisessig, 100 g Wasser) und Zusatz von Glaubersalzlösung (10 g Glaubersalz, 1 g Eisessig, 100 g Wasser) traten die Fasern deutlicher hervor.

Die Untersuchung der Einwirkung von konzentrierter Salzsäure (1 Vol. HCl pur. von Merck + 1 Vol. Wasser) auf die Pollenmutterzellen von *Hemerocallis flava* (Alkoholmaterial) ergab folgendes:

In Teilung begriffene Zellen, deren Kern sich im Spindelstadium befand, zeigten, als sie nach 24stündiger Einwirkung von Salzsäure (1 Vol. HCl pur. von Merck + 1 Vol. H₂O) in der Säure untersucht wurden, die Spindelfasern sehr gut und scharf erhalten, Chromosomen waren nicht zu erkennen, auch nicht nach dem Auswaschen mit 0,28proz. Salzsäure. Essigkarmin färbte nach halbstündiger Einwirkung das Plasma schwach, Chromosomen traten nicht hervor, während sich in Pollenmutterzellen, welche direkt aus Alkohol in Essigkarmin eingetragen worden waren, die Chromosomen sofort gut färbten.

Pollenmutterzellen, welche nach 24stündiger Einwirkung der konzentrierten Salzsäure mit 0,28proz. Salzsäure ausgewaschen und dann auf 24 Stunden in die verdünnte Säure eingelegt worden waren, besaßen sehr blasse, kaum sichtbare Spindelfasern, Chromosomen waren nicht kenntlich, so daß der Kernraum innerhalb des deutlich gegen denselben abgegrenzten Zellplasmas nahezu homogen erschien. Nach dem Auswaschen mit Fuchsin S-Methylenblau-Mischung färbte sich alles rot, und zwar die Spindelfasern sehr schön deutlich. Chromosomen wurden auch nach längerer Zeit nicht sichtbar.

Es wurden des weiteren Pollenmutterzellen untersucht, welche nach 24stündigem Verweilen in der konzentrierten Säure mehrere Tage in absolutem Alkohol gelegen hatten: Bei der Untersuchung in Alkohol fanden sich in Zellen, welche im Beginn der Teilung begriffen waren, scharf hervortretende, glänzende Nukleolen. Übrigens enthielten die Kerne nur fein granulierte Substanz in unregelmäßiger Verteilung. Beim Auswaschen mit destilliertem Wasser quoll der Nucleolus etwas. Seine Quellung nahm zu, als dann mit 0,28proz.

Salzsäure ausgewaschen wurde. Es erfolgte eine starke Aufhellung des sonstigen Kerninhaltes und des Zellplasmas. Chromosomen wurden nicht sichtbar. In anderen Pollenmutterzellen sah ich bei der Untersuchung in Alkohol außer den glänzenden Nukleolen und der fein granulierten, unregelmäßig verteilten Substanz im Kern noch kleine unregelmäßig gestaltete Körper, welche für Platinresiduen der Chromosomen gehalten werden konnten. Beim Auswaschen mit 0,28proz. Salzsäure quoll der gesamte Zellinhalt. Zellen mit Kernen im Spindelstadium zeigten nach dem Auswaschen des Alkohols mit destilliertem Wasser auf Zusatz von Fuchsin S-Methylenblau-Mischung Rotfärbung des Inhaltes, dort, wo die Chromosomen zu erwarten waren, befanden sich farblose Stellen. Bald wurde jedoch die Färbung so intensiv, daß sich keine Einzelheiten mehr erkennen ließen. Wurde das Alkoholmaterial unter Ausschluß der konzentrierteren Säure direkt in 0,28proz. Salzsäure gebracht, so waren die Chromosomen zwar stets deutlich erkennbar, erhielten aber in einem Teil der Präparate nicht den in anderen Fällen nach entsprechender Behandlung beobachteten Glanz. Es mag das damit zusammenhängen, daß die untersuchten Blütenknospen vor der Verarbeitung ungleich lange in Alkohol aufbewahrt worden waren (vgl. p. 192). Die in Teilung begriffenen Kerne von *Hemerocallis* enthalten also abgesehen von den Chromosomen eine vom Zellplasma sich unterscheidende, in Alkohol fein granuliert erscheinende Masse, welche sich bei der Untersuchung in Verdauungsflüssigkeit je nach den vorliegenden Teilungsstadien in verschiedenem Grade löslich gezeigt hat.

Pollenmutterzellen von *Aloe subferox* gelangten aus Alkohol auf 48 Stunden in 0,28proz. Salzsäure, wo die Chromosomen ein scharf umschriebenes, glänzendes Aussehen erlangten. Wurde nun konzentriertere Salzsäure (1 Vol. HCl pur. von Merck + 1 Vol. Wasser) zugesetzt, so quollen die Chromosomen. Nach 24 Stunden waren in Spindelstadien die Spindelfasern deutlich, die Chromosomen schienen gelöst zu sein, man erkannte die Hohlräume, in welchen sie gelegen hatten. Auswaschen mit 0,28proz. Salzsäure förderte sie nicht wieder zutage.

In Pollenmutterzellen von *Larix*¹⁾, deren Kernmembran noch erhalten war und die aus den lebend geöffneten Antheren unmittelbar in absoluten Alkohol übertragen waren, kamen Kerne zur Beobachtung, deren unregelmäßig verteilte Chromosomen einer fein granulierten Substanz eingebettet waren. Wurde das Alkoholmaterial in Wasser untersucht, so zeigte sich zwischen den Chromosomen ein lockeres Strangwerk aus fein granulierter Substanz. Letzteres trat

¹⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile usw. (l. c., p. 299, 301.)

dann auf Zusatz von Salzsäure (1 Vol. 40proz. HCl spez. Gew. 1,190 + 1 Vol. Wasser) besonders scharf hervor. In Alkoholmaterial, welches zunächst 48 Stunden und darauf nach Erneuerung der Flüssigkeit weitere 48 Stunden bei 18—21 ° R mit Verdauungsflüssigkeit behandelt worden war, konnten im Kern (bei der Untersuchung in der Flüssigkeit) glänzende Chromosomen in unregelmäßiger Verteilung, ein blasser Nukleolarrest von gequollenem Aussehen, jedoch keine sonstige geformte Substanz erkannt werden. Nach 24stündiger Behandlung mit absolutem Alkohol in Wasser untersucht, zeigten dann die Kerne dasselbe Aussehen.

Öffnet man Antheren frisch in Zuckerlösung und setzt dann 0,28proz. Salzsäure hinzu, so quellen in den Pollenmutterzellkernen die Nukleolen, die Chromosomen treten scharf hervor, während im übrigen der Kernraum homogen erscheint. Die Untersuchung von Pollenmutterzellen in weiter fortgeschrittenen Stadien der Teilung, nach dem Schwinden der membranartigen Abgrenzung des Kernes ergab folgendes: Wurden Antheren frisch in Rohrzuckerlösung geöffnet und die Pollenmutterzellen dann in dieser Lösung untersucht, bevor eine Plasmolyse eingetreten war, so erschien der Kernraum homogen. In einem Falle mit beginnender Plasmolyse bemerkte ich im Kernraum blasse, undeutliche Gebilde, welche für Chromosomen gehalten werden konnten. Auf Zusatz von Essigsäure (1 g Eisessig + 100 g Wasser) traten Chromosomen überall scharf hervor, während sich übrigens in den Kernräumen feinkörnige Gerinnsel bildeten. In einem Falle konnten Spindelfasern erkannt werden. Gelangten die frischen Pollenmutterzellen direkt in die verdünnte Essigsäure, so ließen sich Spindelfasern und Verbindungsfäden überall sehr schön beobachten. Homogene Kernräume mit scharf umschriebenen Chromosomen hatte man hingegen vor sich, wenn die Pollenmutterzellen direkt in 0,28proz. Salzsäure eingetragen worden waren.

Frisch aus den Antheren herauspräparierte und dann sofort mit absolutem Alkohol bedeckte Pollenmutterzellen zeigten an Stelle des homogenen Kernraumes der frischen Objekte eine sehr feinkörnige, längsfaserige Masse. Alkoholmaterial in Wasser beobachtet enthielt Spindelzustände mit sehr deutlicher Faserung. Auf Zusatz von Salzsäure (1 Vol. Salzsäure von 40 Proz., spez. Gew. 1,190 + 1 Vol. Wasser) wurden die Chromosomen undeutlich, während die Fasern scharf hervortraten. Das Zellplasma blieb ungequollen. In Kernen, welche sich in den ersten Stadien der Teilung befanden, markierte sich in der Umgebung jedes quellenden Chromosoms eine zarte Hülle ungequollener, fein granulierter Substanz. Die Nukleolen blieben scharf umschrieben und ungequollen.

Auf Zusatz von 0,28proz. Salzsäure zu Alkoholmaterial hellte sich das Plasma auf, die kleinen Chromosomen traten indessen inner-

halb der sehr massigen und substanzreichen „achromatischen Figuren“ nicht sehr deutlich hervor. Nach 24 Stunden waren die Nukleolen stark gequollen, die Chromosomen der verschiedenen Teilungsstadien zwar deutlich und nicht gequollen, aber glanzlos. Auf Zusatz der konzentrierteren Säure quollen die Chromosomen auf, an ihrer Stelle schienen sich dann innerhalb der nicht gequollenen, sehr deutlichen achromatischen Kernteile von Flüssigkeit erfüllte Räume zu befinden. Wurde dann aber nach 24stündiger Einwirkung der konzentrierteren Säure mit 0,28proz. Säure ausgewaschen, so wurden die Chromosomen wieder deutlich, sie erhielten nach einiger Zeit ein glänzendes Aussehen, während die übrigen Bestandteile des Zellinhaltes quollen.

24stündige Behandlung frischer Pollenmutterzellen mit Verdauungsflüssigkeit bei 18—20° R hatte folgendes Ergebnis: Die Zellinhalte waren ziemlich stark kontrahiert, das Plasma körner- und tröpfchenreich, ohne deutlich erkennbare Struktur, die Chromosomen lagen glänzend und scharf konturiert in Kernräumen, welche übrigens keine geformte Substanz zu enthalten schienen. Auch in Zuständen mit abgegrenzten Tochterkernen war im Mutterkernrest solche Substanz nicht zu erkennen. In einem Falle (Spindelzustand) glaubte ich allerdings Andeutungen von Fasern zu sehen, indessen war der Einblick durch den Körnerreichtum des Zellplasmas erschwert. Nachdem die Amylumkörner durch Erwärmen zum Verquellen gebracht worden waren, konnte man sich in bestimmten Fällen sehr deutlich davon überzeugen, daß die Kernräume abgesehen von den Chromosomen keine geformte Substanz zeigten. An einer Tochterchromosomengruppe beobachtete ich jedoch sehr blasse Fäden, welche denjenigen Enden der Chromosomen ansaßen, welche dem Schwesterchromosom zugewendet waren. Die Fäden ließen sich nur auf eine sehr kurze Strecke verfolgen. Nach 24stündiger Einwirkung eines Gemisches von Ätheralkohol auf das mit Verdauungsflüssigkeit behandelte Material ergab die Untersuchung in Wasser folgendes: In den Kernräumen schien stets ein sehr geringes Quantum fein granulierter Substanz in unregelmäßiger Verteilung vorhanden zu sein. In vereinzelt Fällen konnten sehr zarte, blasse Fasern beobachtet werden. Auf Zusatz von konzentrierterer Salzsäure (von der weiter oben angegebenen Konzentration) kamen nur in Zuständen mit abgegrenzten Tochterkernen schwach angedeutete Faserungen im Mutterkernrest zur Beobachtung, nicht aber in Spindelzuständen.

Auch Alkoholmaterial wurde hinsichtlich des Verhaltens gegen Verdauungsflüssigkeit geprüft. Dasselbe verweilte zunächst 48 Stunden in der Flüssigkeit bei 18—21° R, sodann nach Erneuerung derselben weitere 48 Stunden und gelangte schließlich auf 24 Stunden in absoluten Alkohol. Bei der Untersuchung in Wasser waren nunmehr Spindelfasern und Verbindungsfäden zu erkennen. Nach 24stündiger

Einwirkung der konzentrierteren Salzsäure (1:1) waren die Chromosomen gequollen, die Spindelfaserreste erschienen sehr zart und substanzarm, das Zellplasma war nicht gequollen. Auf Zusatz von 0,28proz. Salzsäure quoll dann das Plasma, während die Chromosomen deutlicher, wenn auch ohne Glanz hervortraten. Als nun die verdünnte Säure wieder durch ein Gemisch von 2 Vol. HCl spec. Gew. 1,190 und 1 Vol. Wasser verdrängt wurde, traten Plasma und Spindelfasern ungequollen scharf hervor, während die Chromosomen aufquollen, so daß sie nur noch mit Schwierigkeit erkannt werden konnten.

Auch bei *Larix* enthalten also die in Teilung begriffenen Kerne der Pollenmutterzellen nach Einwirkung von Alkohol eine fein granuliert, in fortgeschrittenen Stadien längsfaserige Masse, welche in verdünnter Salzsäure quillt. Durch Behandlung frischer Zellen mit Verdauungsflüssigkeit werden die „achromatischen“ Bestandteile des Kernes bis auf gewisse Reste gelöst.

Die Chromosomen sind durch größere Widerstandsfähigkeit ihrer Hauptmasse gegen konzentriertere Salzsäure vor anderen untersuchten Chromosomen ausgezeichnet, wenn auch die Quellungserscheinungen der Chromosomen von *Larix* in derselben Richtung wie bei den übrigen scharfe Unterschiede gegenüber den sonstigen Bestandteilen des Zellinhaltes bedingen. Es bedarf noch genauerer Prüfung, inwieweit etwa die Vorbehandlung der Chromatinkörper mit Alkohol ihr Verhalten gegen Salzsäure beeinflusst (vgl. p. 192).

Fuchsin S-Methylenblau-Mischung färbt (bei der Einwirkung auf Alkoholmaterial, welches nach 48stündigem Verweilen in 0,28proz. Salzsäure wieder in Alkohol eingelegt worden ist) die Chromosomen intensiv blau, während der sonstige Zellinhalt rot gefärbt wird.

Glaubersalzlösung (100 g Wasser, 10 g Glaubersalz pro Analyse von Merck, 1 g Eisessig) läßt in Alkoholmaterial die Chromosomen stark aufquellen, Zellplasma und Spindelfasern hingegen werden ungemein deutlich.

Nach dem Zusatz von Glaubersalzlösung zu Pollenmutterzellen, welche frisch in 0,28proz. Salzsäure gelangt waren, „quollen die Chromosomen stark. man erhielt den Eindruck, als ob schließlich die Hauptmasse derselben bis auf eine dünne Hülle gelöst wurde“. In den Kernräumen (Spindelstadien) konnte viel geronnene Substanz, jedoch keine Faserung erkannt werden.

Pollenmutterzellen von *Helleborus foetidus*¹⁾, deren Kerne sich im Spindelzustand befanden, und die nach 24stündigem Verweilen in absolutem Alkohol unter Wasser beobachtet wurden, be-

¹⁾ E. Zacharias, Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Bot. Ztg., 1881, p. 175. Beiträge etc. Bot. Ztg., 1887, S.-A. p. 15.)

saßen sehr deutliche, scharf hervortretende Spindelfasern, während die Chromosomen etwas gequollen und undeutlich erschienen. Auf Zusatz von Verdauungsflüssigkeit quollen die Chromosomen zuerst etwas an, um dann außerordentlich scharf hervorzutreten, während die Spindelfasern immer undeutlicher wurden, so daß man zuletzt nur noch mit Schwierigkeit schattenhafte Andeutungen ihres Verlaufes erkennen konnte.

Wurden frische Pollenmutterzellen in Verdauungsflüssigkeit gebracht und darin nach 24 Stunden untersucht, so sah der Zellplasmarest stark gequollen aus, grenzte sich aber deutlich gegen den spindelförmigen Kernraum ab, in welchem außer den stark glänzenden Chromosomen keine geformte Substanz zu erkennen war, auch nicht nach Zusatz von Alkohol. Der Zellplasmarest verlor infolge der Einwirkung von Alkohol das gequollene Aussehen und zog sich ziemlich stark zusammen. Strasburger¹⁾ gelangte zu entsprechenden Resultaten, indem er das Verhalten frischer Pollenmutterzellen in schwach salzsaurer Pepsinlösung verfolgte: „da stellte es sich dann heraus, daß zu Beginn der Einwirkung die Spindelfasern in den Pollenmutterzellen stellenweise sichtbar sind, sehr bald aber ihre Desorganisation beginnt; sie fließen zusammen, Vakuolen treten zwischen ihnen auf, und nach Ablauf von etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden ist in fast sämtlichen Pollenmutterzellen von den Spindelfasern nichts mehr zu erkennen. Nach 24 Stunden hat man dann in der Tat ein Bild vor sich, wie es Zacharias beschreibt. Setzt man hingegen dieselben mit Alkohol fixierten Pollenmutterzellen der Einwirkung der nämlichen Pepsinlösung aus, so sind selbst bei Anwendung höherer Temperatur, auch nach 48 Stunden die Spindelfasern, wenn auch in gleichem Maße wie der übrige Zellkörper reduziert, noch da.“

Durch Behandlung von Alkoholmaterial mit konzentrierterer Salzsäure gelang es mir die Chromosomen (jedenfalls der Hauptmasse nach) zu lösen, während die Spindelfasern vollständig scharf und deutlich erhalten blieben. Auch durch vorsichtige Behandlung mit einer stark verdünnten Lösung von phosphorsaurem Natron war es möglich die Chromosomen zum Verquellen zu bringen, während die Spindelfasern sich nicht wesentlich veränderten. Wurde zu den Verdauungsresten frischer Pollenmutterzellen nach Einwirkung von Alkohol Salzsäure von der Konzentration 4:3 hinzugefügt, so zog sich der Plasmarest stärker zusammen und erhielt ein glänzendes Aussehen, die Chromosomen hingegen quollen auf, ohne daß ihre Umrisse unkenntlich wurden. Sie verloren erheblich an Substanz und nach etwa 2 Stunden waren nur noch zarte Reste ungelöst zurückgeblieben,

¹⁾ Strasburger, Über Kern- und Zellteilung im Pflanzenreich. (Histologische Beiträge, Heft I, Jena 1888, p. 126.)

welche den *Etuvis plastiniens* des Kernfadens von Carnoy¹⁾ entsprechen. Übrigens ist es mir nach den erhaltenen Bildern nicht klar geworden, ob es sich hier wirklich nur um Plastinscheiden handelte, innerhalb welcher sich vor der Salzsäurebehandlung das Kernnuklein befand, oder ob man Plastinresiduen vor sich hatte, die nicht lediglich der Peripherie, sondern auch dem Innern des Kernfadens entstammten. Reste der Spindelfasern waren nicht wahrzunehmen. Als die konzentriertere Salzsäure durch eine 0,3proz. ersetzt wurde, quoll der Plasmarest etwas auf, während in den Chromosomenresten keine glänzende Substanz wieder sichtbar wurde, sie waren im Vergleich zu verdauten, nicht mit Salzsäure von der Konzentration 4:3 behandelten Chromosomen sehr substanzarm.

In den Kernräumen der im Spindelzustand befindlichen Kerne der Pollenmutterzellen von *Helleborus foetidus* konnte also, abgesehen von den Chromosomen, eine nach Behandlung mit Alkohol längsfaserige Masse nachgewiesen werden, welche in Verdauungsflüssigkeit löslich war, sobald frisches Material zur Verwendung gelangte.

Für die untersuchten Fälle ergibt sich, daß der Kernraum (abgesehen von den Chromosomen) von einer im Leben meist völlig homogen erscheinenden Substanz erfüllt ist, welche zum Teil bei der im Pflanzenreich besonders verbreiteten Art der Zellteilung in deren Endstadium als „Mutterkernrest“ dem Zellplasma einverleibt wird²⁾. Diese homogene Substanz erhält durch Alkohol eine fein granulierte Beschaffenheit und erscheint dann in bestimmten Teilungsstadien faserig. Sie unterscheidet sich durch ihre Reaktionen scharf von der Substanz der Chromosomen. Sie hinterläßt nach der Behandlung frischen Materials mit Verdauungsflüssigkeit meist nur sehr geringe wahrnehmbare Reste.

Dementsprechend sagt auch schon Berthold³⁾ auf Grund verschiedener von ihm untersuchter Objekte über die Spindelfasern: „Bei der Einwirkung von künstlichem Magensaft waren sie nach einigen Stunden ebenfalls etwas deutlicher geworden, nach 2tägiger Verdauung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur fand ich sie ebenfalls noch deutlich, dagegen schienen sie mir in mehrere Tage verdaulichem Material samt der Grundmasse, in der sie liegen, größtenteils auf-

¹⁾ J. B. Carnoy, *Biologie cellulaire*, p. 231, Lierre 1884.

²⁾ Vgl. u. a. E. Zacharias, *Über Kern- und Zellteilung*. (Bot. Ztg., 1888.) *Über die achrom. Bestandteile des Zellkerns* (l. c.) und die an diesen Orten zusammengestellte Literatur. *Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen*. (Flora, Ergänzungsband, 1895, p. 252.) Némec, *Neue cytologische Untersuchungen*, p. 74. (Fünftück, Beiträge zur wissenschaftl. Botanik, Stuttgart 1900, Bd. IV, Abtlg. 1.)

³⁾ Berthold, *Studien über Protoplasma-mechanik*, 1886, p. 202.

gelöst zu sein, da die betreffenden Spindelhälften jetzt in den Präparaten den Eindruck von Vakuolen machten.“

„Insoweit für Pflanzen¹⁾ einwandfreie Beobachtungen vorliegen, hat die Substanz, welche die Kernräume in Teilung begriffener Kerne im Leben, abgesehen von den Chromosomen, erfüllt, ein Aussehen, welches der Annahme nicht widerspricht, daß diese Substanz eine homogene Flüssigkeit sei, in welcher zwischen den auseinanderweichenden Kernplattenhälften fädige Gebilde beweglicher Art auftreten können. Das Verhalten dieser Substanz gegen Reagenzien entspricht, soweit untersucht, demjenigen der aus den kontrahierten Protoplasten von *Larix* austretenden Lösungen, welche dem Enchylema Reinke's an die Seite zu stellen sein dürften“ (vgl. p. 226).

Besondere Anschauungen hinsichtlich der Einwirkung von Verdauungsflüssigkeit auf die Spindelfasern vertritt Némec: „Ein nach Zacharias' Angaben bereitetes Pepsinglyzerin (sagt Némec p. 38) plasmolysiert zunächst die lebenden Zellen ganz normal. Die Plasmolyse geht natürlich nach einigen Minuten zurück, da der ziemlich hohe Säuregehalt die Semipermeabilität der Vakuolenwände, sowie der plasmatischen Außenhaut aufhebt, doch genügt schon diese kurzdauernde Plasmolyse dazu, eine körnige Degeneration der Spindelfasern einzuleiten. Legt man also frische, lebende Objekte in die Verdauungsflüssigkeit, so tritt Plasmolyse ein, die achromatischen Fäserchen lösen sich in einzelnen Körnchen auf, die dann nach dem Absterben der Zelle leicht durch molekulare Bewegungen die Reihen, in welchen sie ursprünglich lagen, verlassen. Freilich scheint es dann, daß die achromatischen Fäserchen verschwunden sind und ihr Verschwinden kann irrtümlich als Verdauung bezeichnet werden.“

Demgegenüber ist zu sagen, daß es sich bei meinen Untersuchungen nicht darum gehandelt hat, zu entscheiden, ob und wie durch Einwirkung der Verdauungsflüssigkeit auf frische Objekte die Gestaltung der Spindelfasern beeinflußt wird, sondern um die Frage, ob die den Kernraum erfüllende Masse gelöst wird oder nicht.

Die mit Alkohol oder Pikrinessigschwefelsäure fixierten Objekte zeigen nach Némec nichts von einer Verdauung der achromatischen Fäserchen, auch wenn sie in der Verdauungsflüssigkeit 24 Stunden gelassen werden. Diese Angabe stimmt bis zu einem gewissen Grade mit manchen der weiter oben angeführten Beobachtungen überein. Als leicht verdaubar in schwach angesäuertem Pepsinglyzerin bezeichnet Némec „die Verdickungen der Verbindungsfasern, welche der Zellplatte Ursprung geben“ (Alkoholmaterial).

¹⁾ E. Zacharias, Über die achromat. Bestandteile des Zellkern, 1. c., p. 308 etc.

Aus der morphologischen Literatur ergibt sich für zahlreiche Fälle, daß die Chromosomen des in Teilung begriffenen Kernes nicht ausschließlich aus Chromatin bestehen. Für eine Reihe von Fällen ist sichergestellt, daß das Chromatin an kugelige oder auch anders gestaltete Körper gebunden ist. Auch im ruhenden Kern ist in großer Verbreitung das Vorkommen kleiner Chromatinkügelchen in chromatinfreier Umgebung beobachtet worden.¹⁾ Nach der Behandlung mit Reagenzien können diese Chromatinkugeln als Hohlkugeln (Ringkörper im optischen Durchschnitt) erscheinen (vgl. p. 179, 189).

Daß die Chromosomen im ganzen genommen ebenso wie die Chromatinkörper des ruhenden Kernes in allen untersuchten Fällen zu einem wesentlichen Teil ihrer Masse aus einer Substanz mit den Reaktionen des Kernnuklein bestehen, folgt aus der Gesamtheit der vorstehenden Mitteilungen, daß aber auch Plastin sich an ihrer Zusammensetzung beteiligen kann, ergibt sich aus den Angaben über *Helleborus* und *Larix*.²⁾ Inwieweit Plastin aber etwa nur in den nicht chromatischen, nicht zu den eigentlichen Chromatinkörpern der Chromosomen gehörigen Teilen oder auch in diesen selbst vorkommt, bleibt zu untersuchen.

Auf Grund von Färbungsversuchen hat Lilienfeld³⁾ die Vermutung ausgesprochen, „die Chromatinschleifen der Mitose beständen aus freier oder sehr eiweißarmer Nukleinsäure“, während in den chromatischen Teilen des ruhenden Kernes Eiweißverbindungen der Nukleinsäure vorherrschen dürften. Demgegenüber betont jedoch Heine⁴⁾, „daß sich die in den Chromosomen enthaltenen Substanzen durch unsere mikrochemischen Untersuchungsmethoden nicht von denen

¹⁾ Aus der reichhaltigen Literatur mögen hier beispielsweise die folgenden Arbeiten angeführt werden: Pfitzner, Über den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkerns. (Morphologisches Jahrbuch, 7, 1880.) Carnoy, Biologie cellulaire. (Lierre 1884.) Krasser, Über die Struktur des ruhenden Zellkerns. (Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien, Mathem.-Naturw. Cl., Abt. I, Mai 1892.) Strasburger, Über Reduktionsteilung. (Sitzungsberichte der kgl. preußischen Akad. d. Wiss. physikal.-math. Cl., 24. März 1904.) E. Zacharias, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, Ergänzungsband, 1895.) O. Rosenberg, Über die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. (Flora, 1904, Bd. 93.) Farmer, On the Structure and Development of the Somatic and heterotype Chromosomes of *Tradescantia virginica*. (The quarterly journ. of microscopical Science, Vol. 48, Part. IV, 1905.)

²⁾ Vgl. auch Heine's Angaben über *Salamandra* und *Triton*. (Die Mikrochemie der Mitose. Zeitschr. für physiol. Chem., Bd. XXI, 1896, p. 502.)

³⁾ Lilienfeld, Über die Wahlverwandtschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen. (Verhandl. der physiologischen Gesellsch. zu Berlin, Jahrg. 1892—93, No. 11.) Kossel u. Neumann, Weitere Beitr. zur Kenntn. der Nukleinsäure. (Ebenda, Jahrg. 1893—94, 8. Dez. 1893.)

⁴⁾ Heine, l. c., p. 500.

des sogenannten ruhenden Zellkerns, sowie von denen der Salamanderspermatozoenköpfe unterscheiden lassen“.

Die chromatische Substanz des Kernes erfährt in den untersuchten Fällen im Beginne der Teilung eine Zunahme.¹⁾ Daß es sich dabei um eine Zunahme des Gehaltes an Kernnuklein handelt, ergibt sich z. B. aus dem Vergleich benachbarter in Ruhe und im Beginne der Teilung begriffener Zellen des Pleroms der Wurzelspitze von *Tradescantia virginica*.²⁾

Hinsichtlich der Frage nach der Bildung des Chromatins und sonstiger Stoffwechselvorgänge im Kern und Zellplasma finden sich in den Arbeiten der Zellmorphologen im Anschluß an ihre Betrachtungen gefärbter Präparate mancherlei Erörterungen, welche lediglich Vermutungen ohne hinreichende tatsächliche Grundlagen enthalten.³⁾

So alt wie die Beobachtung, sagt Hansen⁴⁾ in anderem Zusammenhange, ist auch die gelegentliche Meinung, daß zwei am gleichen Ort nacheinander gefundene Gegenstände sich ineinander umgewandelt hätten. Dieser ohne weitere Begründung geäußerten Meinung begegnet man nicht selten in den Ausführungen der Zellmorphologen. Ferner kann man die Auffassung antreffen, es sei zulässig, ohne weiteres anzunehmen, daß eine an irgend einem Orte (b) in der Zelle auftretende Substanz von einem anderen Orte (a) nach b gelangt sei, wenn man nachgewiesen hat, daß eine Substanz mit bestimmten Reaktionen (meist Färbungen) in einem früheren Entwicklungsstadium der Zelle sich bei a vorfand, bei b aber fehlte, während sie sich später nur oder vorzugsweise bei b befindet. Es ist selbstverständlich, daß diese Annahme nicht zulässig ist, da dasselbe Resultat wie durch die angenommene Substanzwanderung auch erreicht werden kann dadurch, daß die Substanz bei a Veränderungen erleidet, während bei b eine Neubildung von Stoffen mit entsprechenden Reaktionen erfolgt.

Beispielsweise mag hier der Literatur gedacht werden, welche über das Schicksal des Nucleolus von *Spirogyra* erwachsen ist, insoweit das für die hier behandelten Fragen von Interesse sein kann.⁵⁾

¹⁾ Berthold, Studien über Protoplasmamechanik. (Leipzig 1886, p. 194.) Strasburger, Über Kern- u. Zellteilung im Pflanzenreiche. (Histologische Beiträge, Heft 1, Jena 1888, p. 33.) Die besonderen Verhältnisse, welche bei der Bildung der Sexualzellen in Betracht kommen können, bleiben hier unerörtert.

²⁾ E. Zacharias, Beiträge etc. (Bot. Ztg., 1887, S.-A., p. 19.) Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895, Ergänzungsband, p. 239.)

³⁾ Einschlägige Literatur ist u. a. zusammengestellt bei Koernicke, Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft., 1903.)

⁴⁾ Hansen, Goethes Metamorphose der Pflanzen. Geschichte einer botanischen Hypothese. (Gießen 1907, p. 173.)

⁵⁾ Vollständige Literaturübersichten findet man in den weiter unten citierten Arbeiten.

Den Vorgang der Zell- und Kernteilung bei *Spirogyra* schilderte Strasburger 1876¹⁾ nach Beobachtungen am lebenden Objekt: Der Nucleolus „geht in der Kernmasse völlig auf“. Nach „Auflösung“ des Nucleolus erscheint die Kernplatte (die Chromosomen). Auch im Jahre 1880²⁾ hat Strasburger im lebenden Objekt den Nucleolus schwinden sehen. Nach Anwendung von Reagenzien erkennt er dann an seiner Stelle in der Äquatorialebene des Kernes angeordnete Körner (Kernplatte, Chromosomen), von welchen er annimmt, sie seien aus dem Nucleolus entstanden, eine unbegründete Annahme.

Später fand Strasburger bei der Untersuchung gefärbter Präparate³⁾, daß der Zellkern außer dem Nucleolus ein feines Gerüstwerk von Fäden führt.“⁴⁾ „An lebenden Objekten (heißt es dann weiter unten) scheint jetzt das Kernkörperchen zu schwinden; in Wirklichkeit geht es in den Bau des Kernfadens ein.“ Beobachtet ist hier aber wieder nur das Schwinden des Kernkörperchens und sonst nichts über das weitere Schicksal seiner Substanz.

In chemischer Hinsicht konnte ich⁵⁾ feststellen, daß die Chromosomen der Kernplatte die Reaktionen des Kernnuklein zeigen.

Carnoy's⁶⁾ Behauptung gegenüber, daß die Nukleolen von *Spirogyra* „le boyau de nucléine“ des Kernes enthielten, fand ich⁷⁾, daß diese Nukleolen sich in ihrem Verhalten gegen verdünnte Salzsäure, Magensaft, Karminlösungen keineswegs von den Nukleolen bei *Galanthus nivalis* unterschieden. „Läßt man Salzsäure von 0,2 Proz. auf *Spirogyren* (Alkoholmaterial) einwirken, so quillt der Nucleolus zu einem äußerst blassen Körper auf, in welchem sich keine Spur von Nukleinkörpern (Kernnuklein) nachweisen läßt. Hingegen erkennt man in der den Nucleolus umgebenden Kernmasse ein sehr feines glänzendes Gerüst“.

Demgegenüber hat dann Meunier⁸⁾ versucht den Standpunkt Carnoy's zu verteidigen. Meunier suchte die Abweichungen meiner Resultate von den seinigen zum Teil dadurch zu erklären, daß ich Alkoholmaterial, er dagegen frisches untersucht habe. In Gemeinschaft mit Herrn Dudley habe ich dann⁹⁾ frisches und

¹⁾ Strasburger, Über Zellbildung und Zellteilung. 2. Aufl., Jena 1876, p. 35.

²⁾ Strasburger, l. c. 3. Aufl., Jena 1880, p. 174.

³⁾ Strasburger, Über den Teilungsvorgang der Zellkerne. Bonn 1882, p. 49.

⁴⁾ Vgl. auch Flemming, Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. Leipzig 1882, p. 315, 159.

⁵⁾ E. Zacharias, Über den Zellkern. (Bot. Ztg., 1882, p. 663.)

⁶⁾ Carnoy, Biologie cellulaire. Lierre 1884, p. 237.

⁷⁾ E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 274.)

⁸⁾ Meunier, Le Nucléole des *Spirogyra*. Mémoire de Botanique présenté au concours de 1887 etc. (Lierre, La Cellule, T. III, 3. Fascicule.)

⁹⁾ E. Zacharias, Erwiderung. (Bot. Ztg., 1888, p. 90.) Vgl. ferner diesen Abschnitt, p. 216.

Alkoholmaterial einer erneuten Prüfung unterzogen, ohne dabei zu anderen als den früheren Resultaten zu gelangen. Auch nach der Behandlung frischen oder nur kurze Zeit mit Alkohol behandelten Materials mit verdünnter Salzsäure oder Magensaft war keine Spur von Kernmuklein im Nucleolus des ruhenden Kernes zu erkennen.

Ich habe neuerdings meine älteren Angaben einer abermaligen Nachprüfung unterzogen. Die Resultate stimmen mit den früheren überein: Bei der Einwirkung von 2 prom. Salzsäure auf lebende Spirogyren quoll der Nucleolus stark auf, während in seiner Umgebung ungequollene, glänzende Substanz sichtbar wurde. Weitere Veränderungen wurden im Verlaufe von 24 Stunden nicht sichtbar. Nun gelangte das Material in absoluten Alkohol und wurde darin untersucht.

Die Kerne waren substanzarm, enthielten ein Gerüst, in welchem wohl die Abgrenzung des Nucleolus, nicht aber ein Residuum desselben mit Sicherheit zu erkennen war. Seine Hauptmasse war jedenfalls nicht mehr vorhanden. Auf Zusatz von Fuchsin S färbten sich die Pyrenoide, in geringerem Grade der sonstige Zellinhalt. Ein stärker gefärbter Nucleolus trat nicht hervor.

Wurden die Algen nach 24stündigem Verweilen in absolutem Alkohol auf 24 Stunden in 2 prom. Salzsäure eingetragen, darauf in destilliertem Wasser abgespült und darin untersucht, so war der Nucleolus blaß und gequollen, in seiner Umgebung befand sich ein Gerüst mit Körnchen. Auf Zusatz von Methylenblau-Fuchsin S färbten sich zunächst die Pyrenoide und Nukleolen schön rot, dann, aber weniger stark, auch der sonstige Zellinhalt. Im Kern, außerhalb des Nucleolus, schienen sich Körnchen blau zu färben.

Wurden Spirogyren auf 24 Stunden in absoluten Alkohol, für dieselbe Dauer in 2 prom. Salzsäure, dann wieder in Alkohol eingelegt und schließlich in 2 prom. Salzsäure untersucht, so erschien der Nucleolus durchaus homogen und gequollen, der sonstige Kernraum enthielt ein feines Gerüst mit kleinen glänzenden, scharf umschriebenen Körnchen, auch einzelne etwas größere derartige Körperchen kamen darin vor. Auf Zusatz einer Mischung von Methylenblau-Fuchsin S färbten sich die Pyrenoide und Nukleolen sehr schön rot. Auch die ganze sonstige Kernmasse färbte sich rot (die Zwischenräume im Gerüst zeigten sich von roter Masse erfüllt), dann erschienen in der roten Kernmasse (nicht in den Nukleolen) dunkle Körnchen, an den größeren dieser Körnchen konnte erkannt werden, daß sie blau gefärbt waren.

Ein Vergleich dieser Angaben mit früheren Ausführungen zeigt, daß sich im Kern von Spirogyra ebenso wie in zahlreichen anderen daraufhin geprüften Kernen Kernmuklein nicht im Nucleolus, wohl aber im „Kerngerüst“ nachweisen läßt.

Meunier leitet die Chromosomen der Teilungsfigur (die in Reagenzienpräparaten an der Stelle auftreten, wo im Leben das Verschwinden des Nucleolus beobachtet werden kann) vom Nucleolus ab. Demgegenüber schließt sich dann Strasburger¹⁾ meiner Kritik der Arbeit Meunier's an. Er konnte an Reagenzienpräparaten feststellen, daß außerhalb des Nucleolus ein Kerngerüst mit geringem Chromatingehalt vorhanden ist, und daß dieses zur Bildung der „Kernplatte“ schreitet, bevor noch der Nucleolus verschwunden ist. „Das Kernkörperchen schwindet meist erst, wenn die Kernfäden eine nicht unbedeutende Dicke erlangt haben. Ist die Verkürzung und Verdickung der Kernfäden bis zu einem gewissen Grade fortgeschritten, so beginnen dieselben nach der Äquatorialebene zurückzuweichen.“ Sie verfügen sich also dorthin, wo sich früher der Nucleolus befand. Diese Resultate stehen in guter Übereinstimmung mit den mikrochemischen Befunden und dem für viele andere Zellkerne ermittelten Verhalten insofern, als im Kern von Spirogyra wie bei anderen Kernen im Zustande der Ruhe ein Kernnuklein-haltiges Gerüst und ein Kernnuklein-freier Nucleolus konstatiert worden sind.

Auch Moll²⁾ fand an gefärbten Präparaten, daß die Bildung der Chromosomen außerhalb des Nucleolus erfolgt, wenn dieser noch vorhanden ist. Er hält es aber für wahrscheinlich, daß der Kernfaden „is first formed from the nuclear plasm and that afterwards the chromatin flows out into it“ und zwar aus dem Nucleolus.

Dergleichen unbegründete Annahmen hinsichtlich des Kernstoffwechsels sind charakteristisch für die Denkweise mancher Morphologen. Die Frage nach der Herkunft des Chromatins der Teilungsfiguren von Spirogyra, welches in diesen in beträchtlicherer Menge beobachtet worden ist, als im Gerüst des ruhenden Kernes, läßt sich durch die Betrachtung von Serien gefärbter Präparate nicht entscheiden, wenn auch diese Präparate wie im vorliegenden Falle unter Anwendung „aller Hilfsmittel der modernen Technik“ mit großer Sorgfalt und Mühe hergestellt worden sind. Daß der Chromatingehalt des Kernes in den Anfangsstadien der Teilung zunimmt, ist vielfach beobachtet worden. Ob Chromatin in den Chromosomen selbst aus zugeführten Stoffen gebildet wird oder ob es an anderen Orten entsteht, um dann in die Chromosomen zu gelangen, ist unbekannt.

Sicher ist aber, daß die Substanz des Nucleolus von Spirogyra sich durch ihre Reaktionen von derjenigen des Chromosomenchromatins unterscheidet, dieses kann also nicht einfach aus dem Nucleolus

¹⁾ Strasburger, Über Kern- und Zellteilung. (Histologische Beiträge, Heft 1, Jena 1888, p. 8, 9, 212, 215.)

²⁾ Moll, Observations on Karyokinesis in Spirogyra. (Verhandlingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Tweede Sectie, Deel 1, No. 9, 1893.) Vgl. meine Besprechung Bot. Ztg., 1893, p. 282.

in die Chromosomen hineinfließen, wie das Moll für wahrscheinlich hält, weil er Präparate erhalten hat, in welchen der einseitig zugespitzte Nucleolus ein Chromosom berührt. Daß sich im Nucleolus Kernnuklein bildet, wenn er die einseitige Zuspitzung erfährt, hat Moll nicht nachgewiesen.

Mitzkewitsch¹⁾ und Berghs²⁾ leiten die Chromosomen vollständig aus dem Nucleolus her, weil es möglich ist, aus ihren gefärbten Präparatenserien dergleichen herauszudeuten. Es sind aber ebensogut andere Deutungen möglich. Wenn z. B. Berghs in bestimmten Teilungsstadien chromatische Elemente in unmittelbarer Nachbarschaft des sehr unregelmäßig konturierten Nucleolus findet, so kann man daraus in Verbindung mit seinen sonstigen Einzelbeobachtungen über die Herkunft der Substanz dieser chromatischen Elemente keine bestimmten Schlüsse ziehen.

Arbeiten wie die vorliegenden können in beliebiger Anzahl produziert werden, ohne daß durch sie eine endgültige Lösung der hier diskutierten Frage herbeigeführt zu werden braucht. Die benachbarte Lagerung des in der Veränderung begriffenen Nucleolus und der in der Ausbildung begriffenen, schließlich den Ort des Nucleolus einnehmenden chromatischen Elemente ist (abgesehen von etwaigen Verschiedenheiten des Untersuchungsmaterials) geeignet, je nach der Herstellungsart der Präparate und der Beschaffenheit des Autors wechselnde Schlüsse herbeizuführen.

In ähnlicher Weise wie bei *Spirogyra* sind auch für *Zygnema* verschiedene Autoren zu verschiedenen Schlüssen gelangt.

Nach Mabel Merriman³⁾ beteiligen sich Kerngerüst und Nucleolus an der Bildung der Chromosomen, während Escoyez⁴⁾ findet, daß der Nucleolus verschwindet, während aus dem Kerngerüst die Chromosomen hervorgehen. Das Verschwinden des Nucleolus vollzieht sich, wie Escoyez auf Grund der Vergleichung verschiedener Präparate beschreibt, unter Gestaltsveränderungen. Am lebenden Objekt konnte ich dergleichen am Nucleolus der Wurzelhaare von *Chara foetida* im Beginn der Teilung direkt verfolgen.⁵⁾ Es ist anzunehmen, daß auch über *Zygnema* noch weitere Unter-

¹⁾ L. Mitzkewitsch, Über die Kernteilung bei *Spirogyra*. (Flora, 1898, Bd. 85.)

²⁾ Jules Berghs, Le Noyau et la cinèse chez le *Spirogyra*. (La Cellule, T. XXIII, 1. Fasc., Liège 1906.) Vgl. auch Karsten, Die Entwicklung der Zygoten von *Spirogyra jugalis*. (Flora, 1908.)

³⁾ Merriman, Nuclear division in *Zygnema*. (The botanical Gazette. Vol. XLI, 1906.)

⁴⁾ Escoyez, Le Noyau et la Caryocinèse chez le *Zygnema*. (La Cellule, T. XXIV, 2. Fasc., 1907.)

⁵⁾ E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft., 1902, p. 320.)

suchungen erscheinen werden, die je nach der Herstellungsweise und Aneinanderreihung der Präparate Anlaß zu wechselnden Schlußfolgerungen bieten werden.

Eine besondere Stellung hat van Wisselingh den vorliegenden Fragen gegenüber eingenommen.

Nach van Wisselingh¹⁾ entstehen die Chromosomen aus dem Kerngerüst, während aus einem Teil der Masse des oder der Nukleolen zwei kleine Körper hervorgehen, welche sich zweien der Chromosomen anheften, von deren Substanz sie durch größere Widerstandsfähigkeit gegen Chromsäure unterschieden werden können. Sie gehen innerhalb der Tochterkerne in deren Nukleolen über. Diese Resultate van Wisselingh's stehen mit meinen Angaben insoweit im Einklang, als sie die Verschiedenheit der Chromosomen- und Nukleolensubstanz bestätigen.²⁾

Nach van Wisselingh finden sich schon im ruhenden Nucleolus Fäden, welche nach Einwirkung von Chromsäure sichtbar werden. van Wisselingh fixierte zunächst mit Flemming'scher Mischung und behandelte darauf mit 50proz. Chromsäure³⁾.

Die Beobachtungen van Wisselingh's konnte ich den abweichenden Angaben Bergh's⁴⁾ (l. c. p. 77) gegenüber bestätigen. Während der Einwirkung von 50proz. Chromsäure auf Spirogyren, welche vorher 48 Stunden in stärkerer Flemming'scher Lösung gelegen hatten, nahm der Nucleolus zuerst vakuolige Struktur an, erschien dabei scharf begrenzt und ungequollen, dann wurde er blaß und verlor seine scharfe Abgrenzung, während gleichzeitig der sonstige Kern undeutlich wurde. Schließlich erhielt die Substanz des Nucleolus die Gestalt eines sehr deutlichen Fadenwerkes.

Den Folgerungen van Wisselingh's vermag ich mich indessen nicht anzuschließen. Daß die Fadenwerke, welche während der Zerstörung des Nucleolus durch Chromsäure auftreten, einer Struktur des lebenden Nucleolus entsprechen, kann nicht als erwiesen angesehen werden.

Nach van Wisselingh⁵⁾ stimmen die Nukleolen anderer von ihm untersuchter Pflanzen mit denjenigen von Spirogyra „durchaus

¹⁾ van Wisselingh, Über abnorme Kernteilung. (Bot. Ztg., 1903, p. 215.) Über die normale Karyokinese bei Spirogyra (p. 241, Zusammenfassung).

²⁾ Strasburger's einschlägige Ausführungen (Über Reduktionsteilung usw., Histol. Beitr., Heft VI, Jena 1900, p. 135) sind geeignet, eine unrichtige Vorstellung von der Sachlage zu erwecken. Vgl. meine Auseinandersetzung: Über die achrom. Bestandteile des Zellkerns. (Ber. d. deutschen botan. Gesellschaft., 1902, p. 316.)

³⁾ van Wisselingh, Über den Nucleolus von Spirogyra. (Bot. Ztg., 1898, p. 199.)

⁴⁾ Vgl. die Erwiderung auf Bergh's Einwände bei van Wisselingh, Über die Karyokinese bei Oedogonium. (Beihefte zum botan. Centralblatt, Bd. XXIII, 1907, Abt. I, p. 152.)

⁵⁾ van Wisselingh, Über das Kerngerüst. (Bot. Ztg., 1899, p. 175, 156.)

nicht“ überein. „Das einzige, was sie mit diesen gemein haben, ist ihr Vorkommen in Kernen.“ Diese Meinung gründet sich auf das Ergebnis einer „Anwendung der Chromsäuremethode“ auf Nukleolen von *Fritillaria* und *Leucojum*, die sich lösen ohne daß Fadenwerke sichtbar werden. Ich kann das für die Nukleolen aus der Basis wachsender Blätter von *Galanthus* bestätigen. Blattepidermis gelangte frisch auf 48 Stunden in die stärkere Flemming'sche Mischung. Nach Zusatz von 50proz. Chromsäure traten dann die Nukleolen zunächst sehr scharf hervor und erhielten stark blasige Beschaffenheit, um dann nach und nach zu verblassen, ohne daß Fadenwerke kenntlich wurden. Es bestehen also zwischen den Nukleolen bestimmter anderer Pflanzen und denjenigen von *Spirogyra* gewisse Verschiedenheiten, jedoch verhalten sich jedenfalls die Nukleolen (d. h. die „echten Nukleolen“ der Autoren, einschließlich derjenigen von *Spirogyra*) in allen daraufhin bisher geprüften Fällen insofern gleichartig, als in ihnen Kernnuklein nicht hat nachgewiesen werden können.

Chemische Veränderungen von Protoplasma und Zellkern in ruhenden (nicht in Teilung begriffenen) Zellen.

Die pathologische Literatur¹⁾ sowie die Literatur über Drüsenzellen enthält mancherlei Angaben, welche Anknüpfungspunkte für chemische Untersuchungen bieten können. Zunächst erscheint es jedoch noch nicht angebracht, im Rahmen dieser Darstellung auf die genannte Literatur einzugehen. Ferner liegen, namentlich insoweit quantitative Veränderungen in der Beschaffenheit des Kernes in Betracht kommen, Angaben über wachsende und alternde Zellen vor.²⁾ An der Hand einiger dieser Angaben mögen chemische Fragen erörtert werden, welche hier berührt worden sind.

Schwarz konnte bei der Untersuchung der Vegetationspunkte und der in Streckung begriffenen Teile von Wurzeln und Stengeln verschiedener Pflanzen feststellen, daß in allen Geweben das Volumen des Kernes der wachsenden Zellen anfangs zunimmt, um dann später

¹⁾ Vgl. u. a. Küster, Neue Ergebnisse auf dem Gebiete der pathologischen Pflanzenanatomie. (Ergebnisse d. allgem. Pathologie u. pathol. Anat. der Menschen u. Tiere, 11. Jahrg., 1. Abtlg., 1906.)

²⁾ Frank Schwarz, Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Teilung. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, herausgeg. von F. Cohn, 4. Bd., 1. Heft, 1884.) E. Zacharias, Über den Nucleolus. (Bot. Ztg., 1885, p. 290.) Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns usw. (Bot. Ztg., 1887, p. 348.) Über das Verhalten des Zellkerns usw. (Flora, Ergänzungsband, 1895.) Vgl. auch die an diesen Orten citierte Literatur. Zahlreiche einschlägige Mitteilungen finden sich ferner in den Arbeiten der letzten Jahre über pflanzliche und tierische Zellen.

wieder abzunehmen. „Im allgemeinen (sagt Schwarz) fällt das Kernwachstum bei klein bleibenden Zellen geringer aus, als bei den größeren. Ein bestimmtes Verhältnis zwischen Zellgröße und Kerngröße konnte ich nicht feststellen.“

Der Nucleolus der Kerne wachsender Zellen wächst zunächst ziemlich rasch, um zuerst schneller, dann langsamer an Größe abzunehmen. Die Vergrößerung der Nukleolen erfolgt nicht durch Wasseraufnahme, sondern durch Aufnahme anderer Stoffe. Der Chromatingehalt und die Tinktionsfähigkeit ist in jüngeren Kernen größer als in älteren. Die Tinktionsfähigkeit nimmt jedoch erst ab, nachdem der Kern sein größtes Volumen schon erreicht hat, und beginnt kleiner zu werden. Bei der Vergrößerung des Zellkernes handelt es sich demnach nicht bloß um eine Vergrößerung durch Wasseraufnahme, es werden vielmehr direkt Stoffe im Kern aufgespeichert.

In einer späteren Publikation von Schwarz¹⁾ findet sich folgende Ausführung: „Die Volumzunahme des Kernes ist nicht durch die Vermehrung des Chromatins bedingt, dessen Menge, soviel man bei der verschiedenartigen Verteilung beurteilen kann, anfangs unverändert bleibt, später jedoch entschieden abnimmt. Dagegen vermehrt sich die Gerüst- und Zwischensubstanz nach der Teilung sehr bedeutend.“

Von den durch Schwarz untersuchten Objekten unterwarf ich den Kern der zu Gefäßgliedern sich entwickelnden Zellen bei Keimlingen von Zea einer genaueren Prüfung. Der Vergleich der vergrößerten Kerne aus den großen Gefäßzellen der Keimlinge mit den Kernen aus den relativ kleinen Gefäßzellen der ruhenden Samen bestätigte die Angabe von Schwarz, daß die Vergrößerung der Kerne und ihrer Nukleolen in den wachsenden Zellen nicht auf Wasseraufnahme beruht. Wenigstens erweckten die vorliegenden Bilder den Eindruck, daß, falls bei der Vergrößerung der Kerne Wasser aufgenommen wird, jedenfalls auch eine beträchtliche Aufnahme sonstiger Stoffe erfolgt. Ob die prozentische Zusammensetzung der untersuchten Kerne während ihres Wachstums einer Änderung unterworfen war oder nicht, ist nicht ermittelt worden. Die alternden Kerne in Gefäßzellen mit anscheinend vollendeter Wandverdickung unterschieden sich von den jüngeren wachsenden Kernen durch ihren geringeren Gehalt an magensaftlöslichen Stoffen. Verdauliche Substanz war in den alternden Kernen außerhalb des Nucleolus nicht in nachweisbarer Menge vorhanden, wie solches bei den jüngeren Kernen der Fall war (vgl. p. 210).

¹⁾ Fr. Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasma. (Beitr. zur Biologie der Pfl., herausgeg. von F. Cohn, V. Bd., 1. Heft, 1887, p. 82.)

Wie bei Zea, so fand ich auch bei Cucurbita, daß sich die Kerne (vgl. p. 211) mit dem Wachstum der Zellen vergrößern. Dabei nahmen, soweit untersucht, in allen wachsenden Zellen Nukleolen, Chromatinkörper und Grundmaße zunächst an Masse zu. Ob dabei das prozentische Verhältnis der genannten Kernbestandteile zueinander eine Änderung erfährt oder nicht, hat nicht sicher ermittelt werden können.

Unter sich gleichartig scheinen sich die Kerne der Siebröhren- und Gefäßglieder zu verhalten. Haben diese Kerne eine gewisse, für verschiedene Zellen differente Größe erreicht, so nehmen die Nukleolen an Masse absolut mehr und mehr ab. Von der Grundmasse läßt sich dasselbe nicht mit Sicherheit allgemein behaupten. Jedenfalls ist, nachdem die Kerne ein gewisses Größenmaß erreicht haben, eine prozentische Abnahme des Volumens an Grundmasse dem Kernvolumen gegenüber festzustellen. Das bezügliche Verhalten der Chromatinkörper steht nicht fest, doch scheint eine absolute Abnahme der Masse der einzelnen Körper zu erfolgen.

Das Verhalten der Kerne bei der Ausbildung von Siebröhren und Gefäßen weist darauf hin, daß nicht das Vorhandensein solcher Stoffe, welche man als „Nahrungsstoffe“ anzusehen gewöhnt ist, in der unmittelbaren Umgebung des Kernes allein ausschlaggebend ist für den Gehalt des Zellkernes an Eiweiß, Kernnuklein und Plastin. Besonders mag betont werden, daß, obwohl in den Siebröhren dem Zellkern in seiner unmittelbaren Umgebung große Mengen von Eiweiß zur Verfügung stehen, die Nukleolen erheblich an Masse verlieren, ebenso wie in den weit eiweißärmeren Gefäßgliedern.

Ein beträchtliches Wachstum der Zellkerne erfolgt in den Endospermzellen keimender Samen von Ricinus, während der Nucleolus seinen Durchmesser um das Zwei- bis Dreifache vergrößern kann. Aus einer vergleichenden Untersuchung von Alkoholmaterial ergab sich, daß die Vergrößerung des Nucleolus nicht etwa auf der Vermehrung seines Wassergehaltes, sondern auf einer Zunahme seiner „Substanz“ beruht. Die Keimung des Endosperms von Ricinus erfolgt unter beträchtlichem Wachstum seiner Zellen. An nicht wachsenden Endospermen konnten Veränderungen der Zellkerne bisher nicht erkannt werden.

Für ein vergleichendes Studium der Kernveränderungen in Zellen, welche sich hinsichtlich der von ihnen erreichten Größe verschieden verhalten, sind Epidermen der Blätter von *Hyacinthus orientalis* und *Galanthus nivalis* herangezogen worden.

Die Kerne der kleinen Spaltungsöffnungsmutterzellen von *Galanthus* zeigen kleinere Nukleolen, als die Zellen der größeren Schwesterzellen. Weit beträchtlicher ist noch die Größendifferenz zwischen den Nukleolen der jungen Schließzellenkerne und der Kerne der benachbarten großen, noch in weiterem Wachstum begriffenen Epidermiszellen.

Messungen in den Schwesterzellen der Spaltöffnungsmutterzellen und den sonstigen Epidermiszellen ergaben, daß das Volumen des Nucleolus der wachsenden Zellen zunächst wächst, um dann, während die Zelle sich noch weiter vergrößert, eine Zeitlang konstant zu bleiben. Schließlich erfolgt eine Abnahme des Nukleolarvolumens.¹⁾

In den Spaltöffnungsmutterzellen, die kleiner bleiben als ihre Schwesterzellen, ist auch die Vergrößerung der Nukleolen eine geringere. Die Vergrößerung der Nukleolen beruht nicht oder doch jedenfalls im wesentlichen nicht auf Wasseraufnahme, wie die vergleichende Untersuchung von Alkoholmaterial zeigt. Auch nach Behandlung mit Alkohol sind die Größendifferenzen vorhanden und die großen Nukleolen erscheinen nicht minder dicht als die kleinen.

Der volumprozentische Gehalt an Chromatin scheint bei *Galanthus* in den Kernen der größeren Zellen ganz wesentlich geringer zu sein, als in denjenigen der kleineren Zellen. Jedoch ist bei der Beurteilung der erhaltenen Bilder auf die Ergebnisse der Untersuchungen von *Hyacinthus* Rücksicht zu nehmen. Dasselbe gilt hinsichtlich der Größenunterschiede zwischen den Spaltöffnungsmutterzellen und ihren Schwesterzellen.

Im Jahre 1895 habe ich (l. c. p. 239) *Hyacinthus* betreffend, folgendes ausgeführt: „Wie aus Fig. 49 zu ersehen ist, zeigen die Kerne der Spaltöffnungsmutterzelle und ihrer Schwesterzelle schon bevor sie die Form ruhender Kerne angenommen haben, eine verschiedenartige Gestaltung ihrer chromatischen Teile.“²⁾ Die Spaltöffnungsmutterzelle vergrößert sich nur wenig, während ihre Schwesterzelle stark wächst. Dementsprechend verändert sich die Gestalt der Kerne. Während ihrer Gestaltsveränderung scheint eine sehr wesentliche Verschiedenheit im prozentischen Chromatingehalt zwischen dem Kerne der Spaltöffnungsmutterzelle und demjenigen der Schwesterzelle zu entstehen, wie das die Figuren 50—53 erkennen lassen. Im Stadium der Figur 53 ist der Gegensatz zwischen dem Kern der Spaltöffnungsmutterzelle und demjenigen der Schwesterzelle sehr auffallend. Der erstere scheint der chromatinreichere zu sein. Wenn später auch die Spaltöffnungsmutterzelle und ihr Kern mehr heran gewachsen sind, scheinen sich die Kerne in ihrem Nukleingehalt ein-

¹⁾ Entsprechende Angaben über die Abnahme des Nukleolarvolumens in alternden Zellen von *Chara*, *Tradescantia*, *Iris*, *Sambucus* finden sich bei E. Zacharias, l. c., Bot. Ztg., 1885, p. 291, 1887, p. 248.

²⁾ Sehr frühzeitig zeigten sich auch Verschiedenheiten der chromatischen Elemente bei der Entstehung der generativen und vegetativen Kerne des Pollens. (E. Zacharias, 1895, l. c., p. 248. Über Chromatophilie. Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1893.) Im erwachsenen Zustande besitzt die kleine generative einen prozentisch chromatinreicheren Kern, als die größere vegetative Zelle. Entsprechende Verhältnisse kommen vor bei den Kernen der Eizelle und der Bauchkanalzelle von Farnen. (E. Zacharias, l. c., Bot. Ztg., 1887, S.-A., p. 24.)

ander mehr zu nähern (Fig. 54). Dann aber folgt unmittelbar vor der Teilung der Spaltöffnungsmutterzelle eine beträchtliche prozentische und absolute Steigerung im Chromatingehalt des Kernes dieser Zelle (Fig. 55). Fig. 56 zeigt die jungen Schließzellen und den Kern aus der Schwesterzelle ihrer Mutterzelle. Die kleinen Schließzellenkerne scheinen durch hohen Chromatingehalt ausgezeichnet zu sein. Mit dem Wachstum der Schließzellen und ihrer Kerne scheint der prozentische Chromatingehalt der letzteren zu sinken.

Ein sicheres Urteil über die tatsächlich vorhandenen Differenzen im prozentischen Chromatingehalt der in Rede stehenden Kerne wird dadurch erschwert, daß der Durchmesser senkrecht zur Fläche der Epidermis bei den Kernen der Spaltöffnungsmutterzellen und Schließzellen größer ist, als bei den übrigen Epidermiszellkernen.“

Meine Angaben haben später eine Nachprüfung durch Miehé¹⁾ erfahren, welche zu abweichenden Ergebnissen geführt hat.

Miehé gibt zwar zu, daß sich nach der Teilung ein Unterschied im Aussehen der Kerne von Spaltöffnungsmutterzelle und deren Schwesterzelle geltend mache, „indem der Kern der ersteren tafelförmig abgeflacht, dichter und chromatinreicher erschien, der Kern der letzteren hingegen lockerer in der Struktur war und sich rund respektive zackig zeigte“, meint aber, der Größenunterschied beider Zellen komme nicht durch differentes Wachstum derselben zustande. Miehé fand, daß sich aus der Teilung, welche zur Abgrenzung der Spaltöffnungsmutterzelle führt, schon von Anfang an zwei Zellen sehr ungleicher Größe ergaben „und das Verhältnis der ausgebildeten Schließzellen zu der unter ihnen liegenden Epidermiszelle dürfte wohl dasselbe sein, wie wir es bei der Anlage der Spaltöffnungsmutterzelle antreffen“. Die differente Beschaffenheit der Kerne hat daher nach Miehé nichts mit differentem Wachstum der Zellen zu tun.

Den Zustand meiner Fig. 49, welche annähernd gleiche Größe von Schließzellmutterzelle und Schwesterzelle im Stadium ihrer Anlage zeigt, bezeichnet Miehé als einen Ausnahmefall. Meine Fig. 49—52 sollen keine aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien eines Prozesses, sondern nur verschiedene Typen desselben Vorganges darstellen.

Es sind hier demnach folgende Fragen zu beantworten. 1. Worauf beruht das differente Aussehen der Mutterzellkerne und Schließzellenkerne einerseits und der Schwesterzellkerne derselben andererseits, ist ihr prozentischer Gehalt an Chromatin verschieden? 2. Ist das Wachstum der in Betracht kommenden Zellen verschieden?

1. Meine Fig. 49—52 stellen (das hat Miehé nicht erkannt) aufeinanderfolgende Entwicklungszustände der Kerne dar.

¹⁾ Miehé, Histologische und experimentelle Untersuchungen über die Anlage der Spaltöffnungen einiger Monokotylen. (Botan. Centralblatt, Bd. LXXVIII, 1899.)

In Fig. 49 erkennt man im unteren Kerne noch gesonderte Chromosomenenden, in Fig. 50 nicht mehr, der Kern zeigt hier aber noch nicht die abgerundete Gestalt, den lockeren Bau der älteren Kerne, wie in Fig. 51.

In Fig. 52 ist der untere Kern durch die Präparation deformiert. Daß es sich hier um ein älteres Stadium als in Fig. 51 handelt, geht meiner Meinung nach daraus hervor, daß der obere Kern in Fig. 52 den Beginn einer Auflockerung zeigt. Die Gestalt der beiden Kerne ist verschieden. Der Durchmesser senkrecht zur Fläche der Epidermis ist bei dem Kerne der Spaltöffnungsmutterzelle größer, als bei seinem Schwesterkerne. Ersterer ist „tiefer“, letzterer „flacher“. Ein schätzungsweise Vergleich der Volumina beider Kerne ist bei ihrer differenten Gestalt schwierig. Namentlich aber ist es schwierig sicher zu entscheiden, ob der Eindruck einer dichteren Lagerung der chromatischen Teile im Kerne der Spaltöffnungsmutterzellen der Wirklichkeit entspricht, oder lediglich durch seine größere Tiefe vorgetäuscht wird. Auf Grund einer neuerdings vorgenommenen Untersuchung entsprechend gefärbter Mikrotomschnitte¹⁾ halte ich letzteres für nicht unwahrscheinlich.

Ein sicheres Urteil über quantitative Verschiedenheit läßt sich aus der vergleichenden Betrachtung mikroskopischer Bilder nur dann herleiten, wenn die etwa vorhandenen Unterschiede sehr erhebliche sind. Für die Untersuchung des Verhaltens der Nukleolen ist Hyacinthus nicht geeignet, da hier mehrere Nukleolen im selben Kern vorkommen.

2. Daß die Größendifferenz der Zellen bestimmten Stadien der Kernentwicklung nicht genau zu entsprechen braucht, ergibt sich schon aus Fig. 50–51. Dem jüngeren Kernstadium entspricht hier eine stärkere Größendifferenz der Zellen als dem älteren.

In dem von mir neuerdings geprüften Material lagen die Kernteilungsfiguren von beiden Querwänden der Mutterzelle gleich weit entfernt, oder aber der oberen Querwand genähert, in einem Falle auch der unteren. Daß die Kernfiguren durch die Präparation eine Verschiebung erfahren können, ist möglich. Fälle, wie sie Miehle abbildet, in welchen die Kernteilungsfigur an der oberen Grenze einer größeren Mutterzelle liegt, habe ich nur in zwei Fällen gefunden. Es können hier, worauf Miehle hinweist, bei verschiedenen Blättern Verschiedenheiten bestehen. Inwieweit es sich etwa um Rassenunterschiede handeln kann, bleibt zu untersuchen. Nicht sicher ist es übrigens, ob die beobachteten Teilungszustände stets solche waren,

¹⁾ Stücke des Blattes (Alkoholmaterial) mit Essigkarmin nach Schneider gefärbt, in Essigsäure (1 Vol. Eisessig + 1 Vol. Wasser) ausgewaschen, dann in Alkohol absolutus eingelegt. Cedernholzöl-Ligroin-Paraffin-Schnitte von 5 μ Dicke.

die zur Bildung einer Spaltöffnungsmutterzelle geführt haben würden. Es kann sich in manchen Fällen auch um die Entstehung von zwei neuen Epidermiszellen gehandelt haben, namentlich in den jüngsten Teilen der Blätter. Miehе (l. c. p. 5) nimmt an, daß das immer der Fall gewesen sei, wo die Kernteilungsfigur die Zellenmitte einnahm. Ein sicheres Urteil wird hier aber erst möglich, wenn die Umformung der Chromosomengruppen zum „Ruhestadium“ der Kerne beginnt und, falls es sich um die Entstehung einer Spaltöffnungsmutterzelle handelt, die differente Gestalt der Schwesterkerne in die Erscheinung tritt. Dann erlangt die Chromosomengruppe des Spaltöffnungsmutterzellkernes einen im optischen Durchschnitt schmal elliptischen, diejenige des Schwesterkernes einen annähernd dreieckigen Umriß (l. c. Fig. 49). Die einander zugewendeten freien Enden der Chromosomen sind zunächst noch erkennbar, im übrigen beginnt die Sonderung der Chromosomen undeutlich zu werden. In diesem Stadium war in den von mir neuerdings untersuchten Präparaten meist die junge Zellwand schon zu erkennen, und dann war die Spaltöffnungsmutterzelle kleiner als die Schwesterzelle. Die Differenz war aber wesentlich geringer als in den von Miehе beobachteten Fällen.

Da die Teilungen, welche zur Bildung von Spaltöffnungsmutterzellen führen, in verschiedenen Höhen eines Blattes erfolgen, in jeder Höhe Zustände verschiedenen Alters nebeneinander liegen, und auf Grund der gegenwärtigen Untersuchungsergebnisse nicht behauptet werden kann, daß alle Schwesterzellpaare anfänglich aus zwei annähernd gleichgroßen Zellen bestehen, so brauchen Reihen von steigender Größendifferenz, welche man zusammenstellen kann, nicht dem Entwicklungsgange eines Schwesterzellpaares zu entsprechen. Wenn Miehе sagt, meine frühere Meinung bezüglich verschiedener Wachstumsintensität der beiden Zellen habe auf nicht weit genug ausgehnter Beobachtung beruht, so ist das richtig, ob aber seine Vermutung „das Verhältnis der ausgebildeten Schließzellen zu der unter ihnen liegenden Epidermiszelle dürfte wohl dasselbe sein, wie wir es bei der Anlage der Spaltöffnungsmutterzelle antreffen“ den Tatsachen allgemein entspricht, steht auch nicht fest.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen und einer Reihe in der Literatur zerstreuter Angaben¹⁾ ergibt sich, daß in den Kernen wachsender Zellen bestimmte Veränderungen eine verbreitete Erscheinung darstellen. Zu diesen Erscheinungen gehören insbesondere eine Vergrößerung der Kerne und eine Massenzunahme der Nukleolen in den ersten Stadien des Zellenwachstums. Ferner machen die mikroskopischen Bilder in mehr oder minder bestimmter Weise den

¹⁾ Einige Angaben sind u. a. bei E. Zacharias, l. c., 1895, p. 242 zusammengestellt worden.

Eindruck, als ob mit der Vergrößerung der Kerne eine prozentische Abnahme des Chromatingehaltes verbunden sei. Indessen sind hier noch weitere Untersuchungen erforderlich bevor bestimmte Behauptungen aufgestellt werden können.

Festgestellt werden konnte eine prozentische Abnahme des Chromatingehaltes in den Kernen einiger Eizellen. Von Interesse war namentlich der Vergleich verschiedener Entwicklungsstufen der Eierstockseier von *Unio*.¹⁾ „Eier von *Unio* wurden im Juli den Eierstöcken der Tiere entnommen. Die in Alkohol gehärteten Eier (es ist zunächst von den größten im Eierstock vorhandenen Eiern die Rede), in Alkohol untersucht, sind vollständig undurchsichtig. In Schnitten durch solche, in Eiweißmasse eingebettete Eier, die in Alkohol liegen, sieht man den Kern von einer dichten, feinkörnigen Masse erfüllt, in welcher sich der Doppelnucleolus²⁾ als glänzender, homogener Körper vorfindet. Ist das Ei vor der Untersuchung in Alkohol mit Magensaft behandelt, darauf mit Ätheralkohol extrahiert worden, so ist das Eiplasma auch am intakten Ei derartig durchblickbar, daß die Verhältnisse im Kern erkannt werden können. Die granulirte Masse, welche den Kernraum des nichtverdauten Eies erfüllte, ist verschwunden, nur ein äußerst weitmaschiges Netzwerk durchzieht denselben. Die Stränge des Netzwerkes enthalten sehr kleine glänzende Körnchen (Kernnuklein). Nach Zusatz von verdünnter Salzsäure bestehen die Stränge aus einer etwas gequollen aussehenden Substanz, welcher sehr feine glänzende Körnchen eingelagert sind. Wäscht man nun bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit 10 proz. Kochsalzlösung aus, so sind nach längerer Einwirkung der Lösung keine glänzenden Körnchen mehr zu unterscheiden. Die Stränge im Kern haben dasselbe Aussehen wie diejenigen im Zellprotoplasma. Bei der Einwirkung von verdünnter Salzsäure oder Magensaft auf Alkoholmaterial quellen beide Teile des Nucleolus. Der kleinere Teil aber in sehr viel geringerem Grade als der größere. Bei der Behandlung frischer Eier mit Magensaft verliert der Nucleolus erheblich an Substanz, wovon man sich überzeugen kann, wenn man Schnitte von Alkoholmaterial und frisch verdaute Eier unter Alkohol vergleichend betrachtet. Nach Behandlung mit Magensaft und Ätheralkohol in verdünnter Salzsäure untersucht, sieht der gesamte Nukleolarrest blaß und gequollen aus, er besteht aus einem annähernd kugeligen Körper und einem größeren, im optischen Durchschnitt ringförmigen. Beide Körper zeigen eine undeutlich netzige Struktur, Kernnuklein enthalten sie nicht.

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen. (Bot. Ztg., 1887, S.-A., p. 25.)

²⁾ Vgl. Flemming, Zellsubstanz, Zell- und Kernteilung. (Leipzig 1882, p. 104, 147.)

Die Hauptmasse des Eikernes besteht demnach aus in Magensaft löslicher Substanz, er enthält ferner Plastin, darin sehr wenig Kernnuklein und einen eigentümlichen Nucleolus, dessen kleinerer Teil, wie die angeführten und die von Flemming beschriebenen Reaktionen zeigen, dem Verhalten der gewöhnlichen Nukleolen entspricht, während der größere Teil sich von den letzteren nach Flemming besonders dadurch unterscheidet, daß er in Wasser verquillt. Die kleineren Kerne jüngerer Eier zeigen nach der Behandlung mit Magensaft und Ätheralkohol bei der Untersuchung in verdünnter Salzsäure ein schönes, dichtmaschiges Gerüst von durchaus charakteristischem Nukleinglanz. Dieses Gerüst wird in älteren, größeren Kernen immer weitmaschiger. Je weitmaschiger das Gerüst im wachsenden Kern der älteren Eier wird, um so mehr nimmt der Nukleinglanz der Stränge ab, in den Strängen der größten Kerne sieht man nur noch sehr feine Körnchen, so daß sich diese Stränge nur noch wenig von jenen im Zellplasma unterscheiden. Ich halte es auf Grund der mitgeteilten Beobachtungen für wahrscheinlich, daß die Massenzunahme des Eikernes hauptsächlich auf einer Zunahme des verdaulichen Eiweißes beruht, während das Nuklein nicht zunimmt, sondern sich in dem größer werdenden Kerne verteilt, welcher dann schließlich im Verhältnis zu den übrigen ihn zusammensetzenden Substanzen viel weniger Kernnuklein enthält als der Kern des jungen Eies.“

Die Untersuchung von Eierstockseiern des Frosches ergab im wesentlichen dieselben Resultate, nur konnte in den größten der untersuchten Eikerne kein Kernnuklein mehr nachgewiesen werden. „Mit der Größenzunahme des Eikernes verbindet sich hier eine außerordentliche Zunahme der Nukleolarsubstanz des Kernes, eine Vermehrung der Nukleolen. Die Nukleolen unterscheiden sich jedoch in ihren Reaktionen, soweit untersucht, nicht von den Nukleolen sonstiger Kerne.“

Carnoy¹⁾ hat später meinen abweichenden Befunden gegenüber behauptet, daß die Nukleolen der Batrachiereikerne nukleinhaltig seien. Eine Nachprüfung²⁾ ergab jedoch die Bestätigung meiner früheren Angaben: „Die Untersuchung des mikrochemischen Verhaltens der Froscheinukleolen geschah folgendermaßen: ein frisches Eierstocksei gelangte auf den Objektträger in etwas Froschblut und wurde mit Nadeln unter dem Simplex vorsichtig geöffnet, so daß der Kern mit dem ausfließenden Inhalt des Eies unverletzt frei heraustrat. Nun wurde Methylgrünlösung (sie enthielt auf 100 g Wasser 1 g

¹⁾ Carnoy et Lebrun, La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. (La Cellule, T. XII, 2. Fasc., 1897.)

²⁾ E. Zacharias, Über Nachweis und Vorkommen von Nuklein. (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft., 1898, p. 196.)

reine konzentrierte Essigsäure) hinzugesetzt und ein Deckglas aufgelegt. Während der mikroskopischen Beobachtung platzte alsbald der Kern unter dem Druck des Deckglases, und die Nukleolen gelangten zum Teil in die umgebende Flüssigkeit. Während sich hier die Nukleingerüste der Blutkörperkerne sofort intensiv grün färbten, blieben die Nukleolen ungefärbt, von gequollenem Aussehen. Auch nach halbstündiger Einwirkung der Farblösung war keine Färbung der Nukleolen eingetreten. Ein schärferer Gegensatz als derjenige zwischen den intensiv smaragdgrün gefärbten Nukleingerüsten der Blutkörperkerne und den ungefärbten Eikernnukleolen war gar nicht denkbar. Eierstockseier, welche einige Tage im Alkohol gelegen hatten, wurden in destilliertem Wasser untersucht. In den Eikernen traten die Nukleolen als glänzende Körper scharf umschrieben hervor. Auf Zusatz von 0,28proz. Salzsäure verblaßten und verquollen sie jedoch sofort, während im selben Präparat befindliche Kerne von Blutkörperchen glänzende, scharf konturierte Gerüste erkennen ließen. Auch hier war wiederum gar kein schärferer Gegensatz denkbar. Nach 2tägiger Wirkung der Salzsäure hatte sich das Bild nicht geändert. Nun erfolgte ein Zusatz von Methylgrünessigsäure. Zunächst färbten sich die Kerngerüste der Blutkörperchen intensiv grün, dann wurde auch das Eiplasma mehr oder weniger gefärbt und gleichzeitig färbten sich auch die Nukleolen ein wenig, bewahrten aber ihr gequollenes Aussehen. Die Eigenschaft, sich unter Umständen schließlich schwach mit Methylgrün zu färben, kommt manchen Bestandteilen des Zellinhaltes zu. Eine Verwechslung derartiger Färbungen mit der charakteristischen Kernnukleinreaktion ist bei einiger Umsicht ausgeschlossen. In den Nukleolen des Froscheies ließen sich also Substanzen, welche gegen Methylgrünessigsäure und 0,28proz. Salzsäure das charakteristische Verhalten des Kernnuklein zeigen, nicht nachweisen.“

Im befruchtungsreifen Zustande wurden die Eikerne verschiedener Pflanzen untersucht. Bei *Lilium candidum* konnte etwas Kernnuklein nachgewiesen werden, das nukleinhaltige Gerüst war aber sehr zart und substanzarm, verglichen mit den derben, nukleinreichen Gerüsten der sonstigen Kerne der Samenknospen.

Die Eikerne von *Pteris serrulata* enthielten große Nukleolen mit den üblichen Reaktionen dieser Körper. Übrigens ließ sich im Kern Platin, aber kein Kernnuklein nachweisen, ebensowenig in Eikernen von *Pinus silvestris*. Auch hier waren große Nukleolen vorhanden. Der Eikern von *Marchantia polymorpha* erscheint nach der Behandlung mit Alkohol, in Wasser untersucht, „als eine granuliert Masse, in welcher ein großer Nucleolus als homogener Körper liegt“. ¹⁾ „Sind

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge. (Bot. Ztg. 1887, p. 24, S.-A.)

aber die Archegonien lebend in 0,28proz. Salzsäure gelangt und werden sie dann 24 Stunden später in der Säure untersucht, so erscheint der Kern des Eies als scharf gegen das Plasma abgegrenzter Hohlraum, in welchem sich geformte Substanz nicht erkennen läßt. Der Eikern enthält im schärfsten Gegensatz zum Spermakern keine durch das eingeschlagene Verfahren nachweisbare Menge von Kernnuklein.¹⁾

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhange eine Beobachtung, welche Miescher in seiner Arbeit über das Lachssperma in einer Anmerkung zu p. 71 mitteilt: „Nach einer interessanten, von Dr. Lindgren im hiesigen Institut gemachten Beobachtung ist das Keimbläschen des Säugetiereies (Rind, Schaf, Schwein) im Gegensatz zu den Kernen des Keimepithels in 1prom. HCl löslich.“ Vermutlich handelte es sich hier um eine Quellung, nicht um eine völlige Lösung aller Substanzen des Keimbläschens.

Auf Grund der Entwicklungsgeschichte der pflanzlichen Eikerne konnte ich es (1887 l. c.) als wahrscheinlich bezeichnen, daß auch dort, wo mit den angewandten Methoden der Nachweis von Kernnuklein nicht gelingt, noch ein geringer Gehalt an diesem Stoffe vorhanden ist.

Inwieweit etwa die vorhandenen Kenntnisse von der Beschaffenheit der Sexualzellen ausreichen, um das Verständnis für den durch die Befruchtung gegebenen Anstoß zur Weiterentwicklung des Eies von chemischen Erwägungen ausgehend zu fördern, soll hier nicht erörtert werden. Es mag auf die Zusammenfassung bei Burian²⁾, auch auf einen Vortrag von Loeb³⁾ hingewiesen werden.

Burian hält es für denkbar (l. c. p. 837), „daß in den verschiedenen Fällen von Befruchtung mit Sperma vielleicht ganz verschiedenartige chemische Substanzen oder physikalische Faktoren die Eientwicklung auslösen“. Eine Vorstellung, welche der von Reinke⁴⁾ mit Recht besonders betonten „Mannigfaltigkeit der Organismen“ Rechnung trägt.

¹⁾ E. Zacharias, Beiträge zur Kenntnis der Sexualzellen. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1901, p. 393.)

²⁾ Burian, Chemie der Spermatozoen. II. (Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 5. Jahrg., 1. u. 2. Abteilung, 1906.)

³⁾ Loeb, Über den Befruchtungsvorgang. (Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen, herausgeg. von W. Roux, Leipzig 1908, Heft II.)

⁴⁾ Reinke, Einleitung in die theoretische Biologie. (Berlin 1901, p. 447.)

Schluß.

„Wenn wir alles das, was wir gegenwärtig über den Abbau der Nukleoproteide und speziell der Nukleinsäure wissen, überblicken, sagt Abderhalden¹⁾, dann sehen wir noch weite Lücken in unseren Kenntnissen. Es ist uns noch nicht recht klar, in welcher Weise die Nukleoproteide in der Zelle selbst am Stoffwechsel sich beteiligen, so wenig uns überhaupt die Rolle des Kernes im Zellstoffwechsel bekannt ist.“

Sind nun tatsächlich die Fortschritte, welche die chemische Erforschung der Zelle bisher erzielt hat, verhältnismäßig gering, so liegt es doch nicht im Interesse einer Vertiefung der Zellenlehre, wenn die auf diesem Gebiete tätigen Forscher sich derartig auf das Studium der morphologischen Verhältnisse beschränken, wie das vielfach geschieht. Wenig ersprießlich sind auch die mehrfach beliebten Erörterungen darüber, ob der chemischen oder der morphologischen Forschungsrichtung größere Erfolge beschieden seien.

Daß es möglich ist, morphologisch fein zu analysieren, wie es neuerdings sehr eindringlich betont worden ist, wird niemand bezweifeln. Ebenso wenig kann es aber zweifelhaft sein, daß bei besserem Zusammenarbeiten der morphologischen mit der chemischen Forschung unsere Kenntnis von der Zelle schon jetzt weiter gediehen sein würde, als es tatsächlich der Fall ist. Als Belege für diese Behauptung mögen einerseits die weiter oben besprochenen Arbeiten von Osborne und Harris über die Nukleinsäure des Weizens angeführt werden, andererseits die bedeutsamen Untersuchungen Boveri's über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes.²⁾

Schon die Wahl des Wortes Konstitution in einem von der üblichen chemischen Bedeutung ganz abweichenden Sinne als Bezeichnung für morphologische Dinge ist nicht zu billigen. Klarheit und Eindeutigkeit der wissenschaftlichen Terminologie sollte nicht irgendwelchen besonderen Strebungen geopfert werden.

Boveri sagt (p. 122), er habe für den besprochenen morphologischen Tatsachenkomplex den Ausdruck Konstitution wesentlich deshalb gewählt, weil dieser Titel vielleicht bei manchem Leser biochemische Assoziationen hervorrufen würde, und weil er durch den Kontrast, in welchem die vorgeführten Tatsachen dazu stehen, besonders deutlich der Meinung entgegenzutreten könne, „als beginne bei

¹⁾ Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1906, p. 324.

²⁾ Boveri, Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. (Jena 1904.)

den cellulären Bestandteilen, die wir als Chromatin, Plastin¹⁾, Protoplasma usw. bezeichnen, bereits die Domäne des Chemikers“.

Wie durchaus möglich eine Vertiefung der Ergebnisse Boveri's an der Hand mikrochemischer Untersuchungen auf Grundlage der vorhandenen chemischen Kenntnisse gewesen wäre, ergibt u. a. eine aufmerksame Prüfung der interessanten Darlegungen Boveri's über „qualitative Verschiedenheit im einzelnen Chromosoma“ (p. 26). Boveri bemerkt allerdings in anderem Zusammenhange (p. 2), nachdem er über eventuelle Beziehungen der chromatischen Substanz zu Linin, Plastin usw. gesprochen hat, dies alles berühre ihn, abgesehen von anderen Gründen, deshalb nicht, „weil von der chemischen oder mikrochemischen Natur bestimmter Kernsubstanzen zur Kernfunktion einstweilen keine Brücke führt“.

Die Kernmorphologie, meint Boveri (p. 123), bezieht sich wenigstens auf das Räderwerk der Uhr, die Kernchemie im besten Fall nur auf das Metall, aus dem die Räder geformt sind. Aus diesem Satz spricht wenig Verständnis für das Wesen der Zelle, er dürfte aber auch Boveri's eigenen Vorstellungen kaum ganz entsprechen. Die Zelle ist keine Maschine, welche mit Bestandteilen aus unveränderlichem Material arbeitet. Die fortdauernden Veränderungen, welche das Material der Zellbestandteile erfährt, sind doch gerade von wesentlicher Bedeutung für die Lebensvorgänge, und die morphologischen Veränderungen können nicht als Prozesse vorgestellt werden, welche gesondert von chemischen Umsetzungen verlaufen. Sehr wenig wissen wir erst vom letzteren. Das kann aber kein Anlaß sein, ihr Studium nach Möglichkeit beiseite zu schieben, muß vielmehr umgekehrt zu intensiver Arbeit auf diesem Gebiet anspornen.

„Wenn sich auf der einen Seite, sagt Hofmeister²⁾, der Morphologe bemüht, den Bau des Protoplasmas bis in die feinsten Einzelheiten aufzuklären, auf der anderen Seite der Biochemiker bestrebt ist, die chemischen Leistungen desselben Protoplasmas mit seinen scheinbar gröberen und doch tiefer greifenden Hilfsmitteln sicherzustellen, so handelt es sich hier im ganzen doch nur um zwei verschiedene Seiten derselben Sache. Dem einen schwebt als Endziel ein möglichst detaillierter Grund- und Aufbau des Protoplasmaabaus³⁾ vor, dem anderen die Darstellung der gesamten, im Protoplasma sich

¹⁾ Über Plastin vgl. E. Zacharias, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. (Berichte der deutschen botan. Gesellsch., 1902, p. 317, 318.)

²⁾ Franz Hofmeister, Die chemische Organisation der Zelle. Ein Vortrag. (Braunschweig 1901, p. 29.) Vgl. auch Kossel, Über die Lymphzellen. (Deutsche medizinische Wochenschr., 1894, No. 7, S.-A., p. 7) und Klebs, Studien über Variation. (Arch. für Entwicklungsmechanik der Organismen, Bd. XXIV, 1907, p. 111.)

³⁾ D. h. in den verschiedenen Stadien der Entwicklung, welche er durchläuft.

abspielenden Vorgänge durch eine zusammenhängende Kette chemischer und physikalischer Formeln. Diese zwei auseinanderliegenden Vorstellungsreihen, soweit es die Sache gestattet, miteinander zur Deckung zu bringen, wird die mühsame aber nicht undankbare Aufgabe der Zukunft sein.“

Nachträgliche Anmerkung zu p. 81.

In einer mir leider erst nach Abschluß des Manuskriptes bekannt gewordenen, interessanten Untersuchung über *Paramaecium caudatum* (Beiträge zur Chemie der Zelle. Centralblatt für Physiologie, Bd. XIII, 1899) teilt Sosnowski mit, daß er bei *Paramaecium* überhaupt keine genuinen Eiweißkörper gefunden habe oder daß diese doch wenigstens in so verschwindendem Prozentgehalt vorhanden gewesen seien, daß er sie nicht nachweisen konnte.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	67
Makrochemische Arbeiten über die Eiweißkörper der Zelle . . .	68
Untersuchungen über eisenhaltige Proteinstoffe	92
Mikrochemische Untersuchungen	102
Nachweis des Phosphors	103
Nachweis des Eisens	124
Direkter Nachweis bestimmter Proteinstoffe	150
Einleitung	150
Zusammenstellung der mikrochemischen Einzelergebnisse . . .	158
Sperma	158
Somatische Zellen	178
Die chemische Beschaffenheit der Kernteilungsfiguren	225
Chemische Veränderungen in ruhenden (nicht in Teilung begriffenen) Zellen	244
Schluss	255

Die Transpiration der Pflanzen. Eine physiologische Monographie
Von Dr. Alfred Burgerstein,
a. o. Univ.-Prof. in Wien. 1904. Preis: 7 Mark 50 Pf.

Biochemie der Pflanzen. Von Dr. phil. et med. Friedrich Czapek,
o. ö. Prof. der Botanik in Prag (jetzt in
Czernowitz). Zwei Bände. 1904/05. Preis: brosch. 39 Mark, geb. 41 Mark 50 Pf.

Inhalt: **Geschichtliche Einleitung.** **Allgemeiner Teil.** **Spezieller Teil:**
Der Kohlenhydratstoffwechsel der Pilze. — Der Kohlenhydratstoffwechsel von
Samen und anderen Pflanzenorganen. — Der Eiweißstoffwechsel der Pilze und
Bakterien. — Der Eiweißstoffwechsel der Samen und anderer Pflanzenorgane. — Die
stickstoffhaltigen Endprodukte des pflanzlichen Stoffwechsels. — Die Sauerstoffauf-
nahme. — Stickstofffreie Endprodukte des Stoffwechsels. — Die Mineralstoffe im pflanz-
lichen Stoffwechsel.

**Die Theorie der direkten Anpassung und ihre Bedeu-
tung für das Anpassungs- und Deszendenzproblem.**

Versuch einer methodologischen Kritik des Erklärungsprinzips und der botani-
schen Tatsachen des Lamarckismus. Von Dr. phil. Carl Dethle, Assistent am
botanischen Institut der Universität Jena. Mit 17 Abbildungen im Text. 1904.
Preis: 4 Mark.

Biologische und morphologische Untersuchungen über

Wasser- und Sumpfgewächse. Von Prof. Dr. Hugo Glöck in
Heidelberg. Erster Teil: **Die
Lebensgeschichte der europäischen Alismaceen.** Mit 25 Textfiguren und 7
lithogr. Doppeltafeln. 1905. Preis: 20 Mark. — Zweiter Teil: **Untersuchungen
über die mitteleuropäischen Utricularia-Arten; über die Turionenbildung
der Utricularia-Arten; über die Turionenbildung bei Wasserpflanzen, sowie
über Ceratophyllum.** Mit 28 Textfiguren und 6 lithographierten Doppeltafeln.
1905. Preis: 18 Mark.

Vererbung und Chromosomen. Vortrag, gehalten am 27. Sept. 1905
in der Gesamtsitzung der beiden
wissenschaftlichen Hauptgruppen der 77. Versammlung deutscher Naturforscher
und Aerzte zu Meran. Von Dr. Karl Heider, Prof. der Zoologie in Innsbruck.
Mit 40 teilweise farbigen Figuren im Text. 1906. Preis: 1 Mark 50 Pf.

Über Erbllichkeit in Populationen und in reinen Linien.

Ein Beitrag zur Beleuchtung schwebender Selektionsfragen.
Von W. Johannsen, Prof. der Pflanzenphysiologie an der Kgl. dänischen
landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen. 1903. Preis: 1 Mark 50 Pf.

Inhalt: **Zweck der Untersuchung.** **Samengröße der Bohnen.** **Die relative**
Breite der Bohnen. **Schartigkeit der Gerste.** **Zusammenfassung und Rückblick.**

Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Deutsche wesent-
lich erweiterte

Ausgabe in fünfundzwanzig Vorlesungen von W. Johannsen, ord. Prof.
der Pflanzenphysiologie an der Univ. Kopenhagen. Mit 31 Figuren im Text.
1909. Preis: 9 Mark, geb. 10 Mark.

Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen.

Ein Beitrag zur Physiologie der Entwicklung. Von Dr. Georg Klebs, Prof.
in Halle. Mit 28 Abbildungen im Text. 1903. Preis: 4 Mark.

Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. Von Prof. Dr. Hans
Molisch, Direktor des Pflanzenphysiologischen
Instituts der k. k. Univ. Prag. Mit 2 Tafeln 14 Textfiguren. 1904. Preis: 6 Mk.

**Die Reizleitung und die reizleitenden Strukturen bei
den Pflanzen.** Von Dr. B. Němeč, Privatdozent der Botanik an der K. K.
böhmischen Univ. in Prag. Mit 3 Tafeln und 10 Text-
abbildungen. 1901. Preis: 7 Mark.

Morphologie und Biologie der Algen. Von Dr. Friedrich Oltmanns, Professor der Botanik an der Universität Freiburg i. Br. 1904/05. Erster Band. Spezieller Teil. Mit 3 farbigen und 473 schwarzen Textabbildungen. Preis: 20 Mark. — Zweiter Band. Allgemeiner Teil. Mit 3 Tafeln und 150 Textabbildungen. Preis: 12 Mark.

Der Spaltöffnungsapparat im Lichte der Phylogenie.

Ein Beitrag zur phylogenetischen Pflanzenhistologie. Von Dr. Otto Porsch, Privatdozent an der Univ. Wien. Mit 4 Tafeln und 4 Textabbildungen. 1905. Preis: 8 Mark.

Versuch einer phylogenetischen Erklärung des Embryosackes und der doppelten Befruchtung der Angiospermen.

Vortrag, gehalten auf der 79. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Dresden am 16. Septbr. 1907. Von Dr. Otto Porsch, Privatdozent für systematische Botanik an der K. K. Universität in Wien. Mit 14 Textabbildungen. 1907. Preis: 1 Mark 50 Pf.

Untersuchungen über Reizerscheinungen bei den

Pflanzen. Mit Berücksichtigung der Einwirkung von Gasen und der tropischen Reizerscheinungen. Von Warwara Polowzow. Mit 11 Abbildungen und 12 Kurven im Text. 1908. Preis: 6 Mark.

Résultats scientifiques du Congrès International de

Botanique, Vienne 1905. (Publications scientifiques de l'Association Internationale des Botanistes I.) [Wissenschaftliche Ergebnisse des Internationalen Botanischen Kongresses, Wien 1905]. Herausgegeben im Namen des Organisationskomitees für den Kongress von R. von Wettstein und J. Wiesner als Präsidenten und A. Zahlbruckner als Generalsekretär. Redigiert von J. P. Lotsy, Generalsekretär der Ass. Int. des Bot. Mit 3 lithographischen Tafeln, 1 Karte und 58 Textabbildungen. 1906. Preis: 20 Mark.

Vorlesungen über Deszendenztheorien mit besonderer Berücksichtigung der botanischen Seite der Frage gehalten an der Reichsuniversität zu Leiden. Von Dr. J. P. Lotsy. Erster Teil. Mit 2 Tafeln u. 124 Textfiguren. 1908. Preis 8 Mark geb. 9 Mark. — Zweiter Teil. Mit 13 Tafeln und 101 Textfiguren. 1908. Preis: 12 Mark, geb. 13 Mark.

Naturwissenschaftliche Wochenschrift. N. F. Bd. V. Nr. 25:

Das Buch Lotsys ist besonders verdienstlich durch die Hervorhebung der botanischen Tatsachen. Werke, die zur Begründung deszendenztheoretischer Ansichten vorwiegend zoologische Daten benutzen, sind zahlreich, während botanische Deszendenztheorien von dem Umfang der Lotsyschen Schrift noch nicht existieren. Der Botaniker wird dem Verfasser daher besonders Dank wissen.

Versuch einer Begründung der Deszendenztheorie.

Von Karl Camillo Schneider, a. o. Prof. der Zoologie in Wien. 1908. Preis: 3 Mark.

Das Protoplasma und die Reizbarkeit. Rede zum Antritt des Rektorates der Rhein.

Friedrich Wilhelms-Universität am 1. Oktober 1891. Von Dr. Eduard Strasburger, Professor an der Universität Bonn. 1891. Preis: 1 Mark.

Wirkung des Lichtes u. der Wärme auf Schwärmsporen.

Von Dr. Eduard Strasburger, Professor an der Universität Bonn. Abdr. a. d. Jen. Zeitschr. f. Naturw. 1878 N. F. Bd. V. Preis: 1 Mark 60 Pf.

Zur Biologie des Chlorophylls, Laubfarbe und Himmelslicht, Vergilbung und Etiolament. Von Ernst Stahl. Mit einer lithograph. Tafel und 4 Abbildungen im Text. 1908. Preis: 4 Mark.

PROGRESSUS REI BOTANICAE

FORTSCHRITTE DER BOTANIK
PROGRÈS DE LA BOTANIQUE
PROGRESS OF BOTANY

HERAUSGEGEBEN

VON DER

ASSOCIATION INTERNATIONALE DES BOTANISTES

REDIGIERT VON

DR. J. P. LOTSY

DRITTER BAND © ZWEITES HEFT



JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1909

Inhalt.

	Seite
C. FRUWIRTH, Die Entwicklung der Auslesevorgänge bei den landwirtschaftlichen Kulturpflanzen	259
J. CHRISTIAN BAY, Bibliographies of Botany. A contribution toward a bibliotheca bibliographica, compiled and annotated	331

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Soeben erschienen:

Lehrbuch der Botanik für Hochschulen.

Von

Dr. Eduard Strasburger

o. ö. Prof. d. Botanik a. d. Universität Bonn,

Dr. Ludwig Jost

o. ö. Prof. a. d. Universität Straßburg i. E.,

Dr. Heinrich Schenck

Prof. a. d. Techn. Hochschule Darmstadt,

Dr. George Karsten

o. ö. Prof. an der Universität Halle.

Zehnte umgearbeitete Auflage.

Mit 782 zum Teil farbigen Abbildungen.

Preis: broschiert 8 Mark, gebunden 9 Mark.

Vorwort zur 10. Auflage.

Mit dieser 10. Auflage vollendet unser Lehrbuch sein fünfzehntes Jahr. Da es sich alle anderthalb Jahre durchschnittlich in einer neuen Auflage verjüngte, so hoffen wir, daß es keine Zeichen hohen Alters an sich trägt. Von dieser 10. Auflage können wir sogar behaupten, daß sie in besonders neuem Gewande vor die Öffentlichkeit tritt. Die Morphologie hat eine starke Umarbeitung erfahren, die Physiologie wurde zum größeren Teil neu geschrieben, die Kryptogamen erhielten die übliche, dem Fortschritt unseres Wissens entsprechende Ergänzung, die Darstellung der Phanerogamen ist völlig umgestaltet.

Einen schweren Verlust hat unser Lehrbuch durch den Tod eines seiner Mitarbeiter, Fritz Noll, erfahren. Seine Physiologie trug nicht wenig zu den ersten Erfolgen des Buches bei. Ein ehrenvolles Andenken ist ihm in unserer Wissenschaft gesichert. An seine Stelle trat Ludwig Jost in den Verband unseres Lehrbuchs ein.

Möge auch diese neue Auflage des Lehrbuchs Nutzen stiften und geneigte Aufnahme finden.

Die Entwicklung der Auslesevorgänge bei den landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.

Von

Prof. C. Fruwirth.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Vorbemerkung.

Auf dem zur Darstellung gelangenden Gebiet wird erst seit Mitte des vorigen Jahrhunderts, energischer erst gegen Ende desselben, gearbeitet; was weiter zurück liegt, sind nur ganz bescheidene Ansätze. Es wird daher zweckmäßig sein, die Darstellung auf die ganze Entwicklung auszudehnen, sie aber bis 1850 oder besser 1857 zurück eingehender zu gestalten und über das erste Auftauchen von Auslesevorgängen nur einige Bemerkungen zu machen. Obgleich nur die Entwicklung der Auslesevorgänge bei landwirtschaftlichen Pflanzen Gegenstand der Darstellung sein soll, werde ich doch in einzelnen Bemerkungen auch auf Auslese im Gartenbau hinweisen.

Einige Begriffe.

Variabilitäts-, Züchtungs- und Auslesearten, Fachausdrücke.

Bei der ungemein vieldeutigen Verwendung der einzelnen Bezeichnungen der Variabilitäts-, Züchtungs- und Auslesearten ist es notwendig festzulegen, was im folgenden unter den einzelnen Bezeichnungen hier verstanden werden soll. Es ist natürlich, daß ich die von mir in meinen Veröffentlichungen gewählten Bezeichnungen heranziehe, ich gebe aber nach Möglichkeit auch die Übereinstimmung

mit den von anderen Seiten gewählten an. Dieser Vorgang erscheint mir deshalb natürlich, weil auf dem Gebiete der Variabilität eine herrschende Ansicht nicht vorliegt und bei Züchtungsarten und Auslesevorgängen die von mir zuerst 1906 gegebene Teilung¹⁾ wenigstens bisher von verschiedenen Seiten anerkannt, von keiner abgelehnt worden ist.

Unter Variationen wurden im folgenden nur solche Abweichungen von Pflanzen verstanden, die in irgendeinem Umfang vererbt werden. Das, was sich bei Pflanzen an Abweichungen zeigt und nicht vererbt wird, zähle ich zu Modifikationen. Die überwiegende Zahl der hochinteressanten Veränderungen, die Klebs bei verschiedenen Pflanzen durch künstliche Beeinflussung erzielte²⁾, rechne ich ebensowenig zu Variationen, wie fast alle der mannigfachen Abweichungen, welche Blaringhem bei Mais durch Verstümmelung direkt erzielte.³⁾

Alle diese Veränderungen mit Ausnahme einiger ganz weniger Fälle schwinden mit dem Tode des Individuums. Sie sind nichts anderes wie die Veränderungen, welche sich bei Saat auf sterilem, trockenem Boden einerseits oder üppig gedüngtem, genügend feuchtem Boden andererseits in Üppigkeit der Pflanzen einstellen und in der nächsten Generation, die unter normalen Verhältnissen gebaut wird, wieder geschwunden sind. Noch näher kommen ihnen in äußerer Erscheinung die Veränderungen der Blütenfarbe, wie sie Baur durch Wechsel der Temperatur bei *Primula sinensis rubra* an ein und derselben Pflanze erzielte. Bei 20° erzeugte das Individuum rote Blüten, in ein Warmhaus mit 30° gebracht wurden weiße Blüten und später, bei Zurückversetzung in ein Haus mit 20°, wieder rote Blüten erzielt; die Samen von den weißen Blüten gaben ebenso wie jene von den roten Blüten normal rotblühende Individuen.⁴⁾

Bei den Äußerungen der Variabilität unterscheide ich die individuelle kleine, die individuelle große und die allgemeine. Innerhalb der individuellen großen trenne ich spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften, Linienmutabilität und Variabilität nach Bastardierung.

A. Das, was ich individuelle kleine Variabilität nenne, entspricht dem, was Darwin individuelle Verschiedenheiten nannte,

¹⁾ Fruwirth, Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie, 1907. — Fühling's landw. Ztg., 57. Jahrg., Heft 4. — Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, I, 3. Aufl., 1909.

²⁾ Klebs, Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen. Jena 1903. — Über künstliche Metamorphose. Abhandlungen der naturhistorischen Gesellschaft zu Halle, Stuttgart 1903—1906.

³⁾ Blaringhem, Mutation et Traumatisme, 1907.

⁴⁾ Beihefte zur Medizinischen Klinik, 1908, S. 285.

was de Vries fluktuierende, graduelle, kontinuierliche, Plus- und Minusvariabilität oder Variabilität im engeren Sinne nennt. Es entspricht ebenso dem, was Johannsen auch als fluktuierende Variabilität, *Marechal variation* (*variabilité*) *lente*, *Bateson continued variation* (besser wohl *continued variability*), *Pearson racial variability* nennt. Diese individuelle kleine Variabilität umfaßt das von Individuum zu Individuum zu beobachtende Schwanken im Ausmaß der einzelnen Eigenschaft innerhalb eines morphologisch einheitlichen Formenkreises. Es wird aber seit den Beobachtungen von de Vries über Zwischenrassen auch das Schwanken zwischen der normalen und abweichenden Eigenschaft bei diesen Formen, die zwischen Varietät und elementarer Art stehen, hierher gerechnet. Zweifellos und leicht zu beobachten ist, daß die individuelle kleine Variabilität von äußeren Verhältnissen stark beeinflußt wird. Scheinbar hat die individuelle kleine Variabilität selbst nichts mit Vererbung zu tun, es zeigt sich eine mehr oder minder regellose Verteilung der Abstufungen im Ausmaß der einzelnen Eigenschaft auf die Individuen des betreffenden Formenkreises. Isoliert man aber die Nachkommen einzelner Pflanzen bei Selbstbefruchtung, bildet man also reine Linien im Sinne Johannsen's oder geht man bei Fremdbefruchtung von einem Individuum aus und treibt in der Individualauslese fortgesetzte bestimmt gerichtete Auslese, so zeigt sich in beiden Fällen der Einfluß der Vererbung. In beiden Fällen wird sich in jeder Nachkommenschaft eine Fülle von Varianten der individuellen kleinen Variabilität finden, aber die Mittel werden unter gleichen äußeren Verhältnissen gegenüber anderen Linien oder anderen geschlechtlichen Gemischen kennzeichnend sein.¹⁾ Bei den Zwischenrassen tritt der Zusammenhang der individuellen kleinen Variabilität mit der Vererbung noch auffallender auf. Für individuelle kleine Variabilität im Ausmaß einzelner Eigenschaften innerhalb einer morphologisch einheitlichen Form hat Johannsen die Erblichkeit des typischen Verhaltens nachgewiesen, für Zwischenrassen de Vries. Daß bei Zwischenrassen ein Übergang von einer derselben in die andere stattfinden kann, wurde von de Vries bereits gezeigt und auch von mir beobachtet. de Vries betrachtet solche Übergänge als Mutationen. Bei individueller kleiner Variabilität in morphologisch einheitlichen Formen ist eine Veränderung des Typus von Johannsen angenommen worden²⁾ und seither sind einzelne Fälle beobachtet worden, die als solche Ver-

¹⁾ Johannsen, Über Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien, Jena 1907. Johannsen, Elemente der exakten Erblichkeit, Jena 1909. Fruchwirth, Untersuchungen über den Erfolg und die zweckmäßigste Art der Durchführung von Veredelungsauslesezüchtung bei Pflanzen mit Selbstbefruchtung. Verlag der Archivgesellschaft. München 1907.

²⁾ Über Erblichkeit, S. 62.

änderungen, die ich Linienmutationen genannt habe, gelten können¹⁾ und Johannsen selbst hat jüngst bei seinen Züchtungsversuchen mit *Phaseolus vulgaris* eine solche Linienmutation festgestellt.²⁾ Neben Linienmutationen sind auch Linienkreuzungen möglich. — Die Äußerungen der individuellen kleinen Variabilität, die sich innerhalb eines Pflanzenindividuums finden, werden allgemein als partielle Variationen bezeichnet und auch hier so genannt.

Ich bin zu der Überzeugung gelangt, daß die von mir bisher verwendete Bezeichnung individuelle kleine Variabilität nicht so entsprechend ist als die Bezeichnung fluktuierende Variabilität, muß erstere Bezeichnung aber noch beibehalten. Die neuen Forschungen haben eben gezeigt, daß das, was bei den Äußerungen dieser Variabilität individuell ist, nur Modifikation ist, das was vererbt wird, nicht individuell ist.

B. Als individuelle große Variabilität habe ich jene bezeichnet, bei welcher der Typus des Formenkreises durch ausgesprochene Änderung der Vererbungssubstanz geändert wird. Ich habe dann weiter unterschieden spontane individuelle große Variabilität und Variabilität nach Bastardierung. Innerhalb der spontanen individuellen großen Variabilität, bei welcher die Variation unter gleichen äußeren Verhältnissen und ohne geschlechtliche Störung meist in vollem Umfang erhalten bleibt, habe ich dann unterschieden:

I. Spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften.

Ia. Gewöhnliche. Sie kann im Auftauchen oder Verschwinden einer morphologischen Eigenschaft bestehen; das Ergebnis entspricht den degressiven und retrogressiven Mutationen de Vries'. Es kann aber auch eine Veränderung des Gesamttypus einer Form durch Auftauchen einer Anzahl neuer Eigenschaften erfolgen, das Ergebnis ist gleich den progressiven Mutationen de Vries'.

Ib. Spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften, die zu Halb- oder Mittlerrassen im Sinne von de Vries führt.

Diese Art der Variabilität zusammen mit der unter Ia erwähnten ist dem gleich, was de Vries Mutabilität, Korshinsky Heterogenesis nennt, was Bateson mit meristic variability, andere englische Forscher mit discontinued variability, Marechal mit variation brusque bezeichnet. Das Ergebnis wird von französischen Gärtnern mit

¹⁾ Fruwirth, Einmalige oder fortgesetzte Auslese bei Individualauslese von Getreide und Hülsenfrüchten. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, 1907, S. 477. Kraus, Kießling, Jahresbericht der kgl. bayr. Saatzuchanstalt Weihenstephan für 1907.

²⁾ Elemente, S. 457.

accidents, von Landwirten mit spontane Variationen oder besser spontane Variationen morphologischer Eigenschaften bezeichnet.

II. Die bereits bei der individuellen kleinen Variabilität besprochene spontane Linienmutabilität.

Von Lotsy werden alle Formen der spontanen individuellen großen Variabilität unter der Bezeichnung diskontinuierliche Variabilität zusammengefaßt.¹⁾ Die auffallenden Variationen, welche der unter Ia und Ib erwähnten Variabilität ihre Entstehung verdanken, nennt er Sprungvariationen und trennt sie von den wenig auffallenden, zu welche er de Vries' Mutanten rechnet und jene Varianten, die unter II fallen und erst durch Kurvenbilder der Nachkommen von einander unterscheidbar sind.¹⁾ Aus den Ausführungen von de Vries und Korshinsky konnte ich aber nur entnehmen, daß sie unter Mutabilität und Heterogenese die Veranlassung zu spontanen Veränderungen morphologischer Eigenschaften fassen.

III. Variabilität nach einer Bastardierung. Hierher gehört die Gesamtheit der Veränderungen, welche in den einer Bastardierung morphologisch unterscheidbarer Formen folgenden Generationen in Erscheinung treten. Es ist demnach hier die Bastardierung auf jene Fälle des geschlechtlichen Zusammentrittes beschränkt worden, in welchen die beiden variierten Formen sich morphologisch unterscheiden lassen. Zusammentritt von Typen, die sich durch verschiedenartige individuelle kleine Variabilität unterscheiden, fällt nicht unter diesen Titel, ist Linienkreuzung.

C. Die allgemeine Variabilität — gleich Darwin's definite variability — kommt als Reaktion aller Individuen einer Form auf geänderte Standortsverhältnisse bei Züchtung nicht direkt in Betracht und sei daher nur genannt.

Gegen die angeführte Einteilung der Variabilitätsformen wird man von botanischer Seite aus auch Einwendungen erheben können. Solche werden besonders von jenen erhoben werden, die auch heute noch keine Scheidung zwischen der fluktuierenden und der diskontinuierlichen Variabilität anerkennen wollen. Dann von jenen, welche die Variabilität nach einer Bastardierung nicht zu den Variabilitätserscheinungen gerechnet wissen wollen. Endlich wird die Einschränkung der Bastardierung auf morphologisch unterscheidbare Formen nicht unwidersprochen bleiben. Ich muß es mir natürlich versagen, eine weitergehende Begründung der Teilung hier zu geben und kann nur darauf verweisen, daß die gegebene Teilung die Grundlage für die Einteilung der Züchtungsarten geben soll und daher die Verhältnisse der Züchtung mit berücksichtigen mußte. Es mußte daher die Unterscheidung zwischen individueller kleiner Variabilität

¹⁾ Lotsy, Vorlesungen über Deszendenztheorien, 1906, I, S. 182.

und gewöhnlicher spontaner Variabilität morphologischer Eigenschaften aufrecht erhalten werden, da die sichere volle Vererbung der letzteren praktisch zu sehr gegenüber dem scheinbaren Fehlen einer Vererbung bei individueller kleiner Variabilität in die Augen fällt. Es mußte aus Zweckmäßigkeitsgründen die Ursache der Vielförmigkeit nach einer Bastardierung zu den Variabilitätserscheinungen gerechnet werden und es war, ebenso vom züchterischen Standpunkt aus betrachtet, zweckmäßig, den Begriff Bastardierung, wie ausgeführt, einzuengen.

Die Züchtungsarten werden unterschieden in Veredelungszüchtung und die Arten der Neuzüchtung: Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften, Züchtung durch Formentrennung und Züchtung durch Bastardierung.

Veredelungszüchtung arbeitet bei Eigenschaften, welche der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind und soll das Ausmaß, mit welchem eine oder eine Mehrzahl physiologischer, seltener morphologischer Eigenschaften vorhanden sind, steigern. Hierher sind demnach Züchtungsverfahren zu rechnen, welche Linien bei Selbstbefruchtern abtrennen oder in solchen Linien (Typen) weiter bei fluktuierend variablen Eigenschaften auslesen und solche, welche die geschlechtliche Mischung innerhalb morphologisch einheitlichen Formen benützen und durch Auslese beeinflussen (Linienkreuzung). Wird bei Veredelungszüchtung mit Gemischen morphologisch verschiedener Formen gearbeitet, was heute selten noch geschieht, so kann sie zur Züchtung durch Formentrennung werden.

Neuzüchtung ist Schaffung von Formenkreisen, die bisher nicht als solche vorhanden waren.

Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften. Benützt wird die spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften. Die seltenen Varianten derselben werden aufgesucht, die Nachkommen geschlechtlich unvermischt gehalten, eventuell von geschlechtlichen Einflüssen gereinigt und zu einem Formenkreis entwickelt, der dann auf seinen Wert geprüft wird.

Züchtung durch Formentrennung. Sogenannte Landsorten aber auch viele Züchtungssorten sind Populationen, die nicht nur Lebenstypen im Sinne Johannsen's enthalten, sondern eine kleinere und größere Zahl von morphologisch unterscheidbaren Formen. Die unterscheidenden Merkmale sind dabei im letzteren Fall nicht immer auffallendere, wie sie die Systematik des Botanikers verwendet, sondern häufig solche, die erst bei genauerer Beobachtung der Nachkommenschaft ausgewählter Pflanzen in Erscheinung treten. Die betreffenden Landsorten gelten in diesen Fällen, vor dem genaueren Studium der Merkmale, als einheitlich. Die Variabilitätsform, die benützt wird, kann sowohl spontane Variabilität morphologischer

Eigenschaften als auch Variabilität nach spontaner Bastardierung sein. Immer ist bei der Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften die Form vorhanden, der Formenkreis muß aber auch bei dieser Züchtungsart entwickelt werden, da die Formenkreise zu einem Gemisch vereint sind.

Züchtung auf dem Wege der Bastardierung. Benützt wird die Variabilität nach einer Bastardierung. Zwei Individuen von Formenkreisen, die sich morphologisch voneinander unterscheiden, werden — entsprechend gewählt — miteinander bastardiert und aus den entstehenden Varianten, den neugeschaffenen Formen, Individuen ausgelesen. Nach erreichter Konstanz wird zu Formenkreisen entwickelt und diese werden geprüft. Ungeschlechtliche Vereinigung zweier Formen durch Pfropfung ist züchterisch wiederholt versucht worden, liefert aber nach den bisherigen Versuchen weit unsicherere Ergebnisse als Bastardierung. Dieselbe Verbindung, welche unter vielen Wiederholungen einen Fall direkter oder indirekter Pfropfbastardwirkung oder wenige solche zeigt, liefert sie im anderen Fall überhaupt nicht. Die neuen botanischen Forschungen auf diesem Gebiet, die von Winkler ausgehen, zeigen gleiches.

Jede der Züchtungsarten macht Auslese notwendig, die in verschiedener Weise durchgeführt werden kann, so daß sich mehrere Ausleseverfahren ergeben. Im Verlauf der Darstellung wird ausgeführt, daß man bei Getreide und Hülsenfrüchten auch Samen und Früchte sowie Fruchtstände als Gegenstände der Auslese verwendet, heute aber von derartigen Verfahren bei höher stehender Züchtung abgekommen ist. Heute ist in solchen immer zuerst die Pflanze oder Pflanze und Nachkommenschaft Gegenstand der Auslese, es sollen daher die Ausleseverfahren nur vom Standpunkt der Auslese solcher ins Auge gefaßt werden. Wo Körner und Fruchtstände als Gegenstand der Auslese verwendet wurden, war die letztere übrigens immer Massenauslese.

Die Übersicht über die Ausleseverfahren läßt sich am besten tabellarisch geben:

Individualanslese.

Die Anlese beginnt mit der Auswahl mehrerer Individuen. Die Nachkommenschaft eines jeden derselben wird für sich gehalten. Wird Anlese fortgesetzt, so wird sie nur innerhalb einer jeden Individualanlese vorgenommen.

Die Anlese beginnt mit der Auswahl mehrerer Individuen. Die Nachkommenschaft eines jeden derselben wird für sich gehalten. Wird Anlese fortgesetzt, so wird sie nur innerhalb einer jeden Individualanlese vorgenommen.

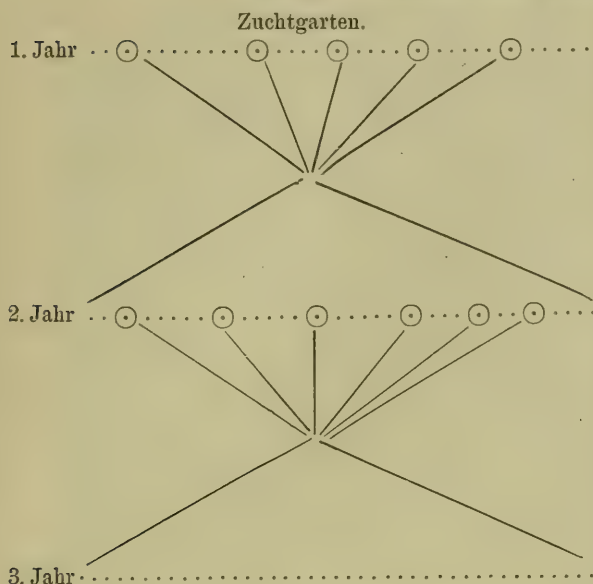
a) Mit einem maligen Ansehen von Individuen.	b) Mit mehrmaligen Ansehen von Individuen und Nachkommenschaften.	c) Mit fortgesetztem Ansehen von Individuen und Nachkommenschaften.
--	---	---

α . Jährlich	β . Jährlich	α . Jährlich	β . Jährlich
wird nur	werden	wird nur	werden
eine Elite-	mehrere	eine Elite-	mehrere
pflanze	Elite-	pflanze	Elite-
aus-	pflanzen	aus-	pflanzen
gelesen.	aus-	gelesen.	aus-
	gelesen.		gelesen.
			(Fig. 4.)

2) v. Rümker führt (Fühling's landw. Ztg., 57. Jahrg., S. 273) für diese drei Arten von Anselen Bezeichnungen ein, die

wieder das Wort Züchtung enthalten, obwohl es sich um Ausleseverfahren handelt. Er nennt das erste Ausleseverfahren eintache, das zweite holierte Linienzüchtung, das dritte Hochzüchtung. Die Bezeichnung für das erste trifft nur bei Selbstbefruchtern zu, da nur bei solchen durch einmalige Auslese Linien abgeschieden werden können.

Fig. 1. Schema einer Massenauslese.



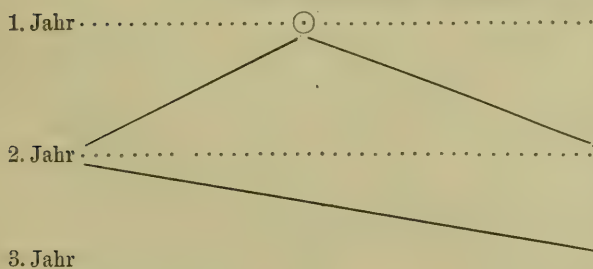
Vervielfältigung.

Alle Pflanzen (.), die neben den nicht als Auslesepflanzen (⊙) verwendeten übrig bleiben, kommen — ev. nach Ausscheidung minderwertiger zur Vervielfältigung, geben Ausleseedgut.

do.

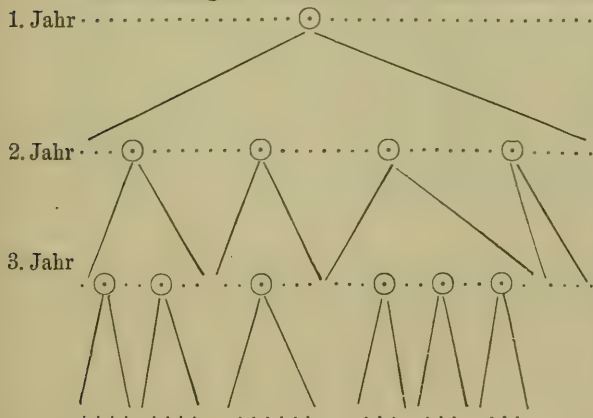
do.

Fig. 2. Schema einer Individualauslese mit einmaliger Auslese von Individuen.



Eine Vervielfältigung durch jährliche Abzweigung fehlt, es wird die erste Nachkommenschaft im Zuchtgarten beurteilt und von ihr ab nur vervielfältigt.

Fig. 3. Schema einer Individualauslese mit mehrmaliger Auslese von Individuen und Nachkommenschaften.



Die Pflanzen (.), die neben den als Auslesepflanzen (⊙) gewählten übrig bleiben, liefern Saatgut zur Vervielfältigung.

Die Pflanzen (.), die neben den als Auslesepflanzen (⊙) gewählten übrig bleiben, liefern Saatgut zur Vervielfältigung, ebenso jene Nachkommenschaften, die noch gut sind, aber doch keine Auslesepflanzen mehr lieferten.

Wie Vorjahr.

Im Anschluß an die Bezeichnungen der Variabilitäts-, Züchtungs- und Auslesearten ist noch einiger Fachausdrücke zu gedenken, welche bei Maßnahmen des Züchtungsbetriebes Verwendung finden und in den folgenden Ausführungen gebraucht werden. Unter Auslese- oder Elitepflanzen versteht man bei Veredelungszüchtung sowohl die Ausgangspflanze einer jeden Auslese als auch diejenigen Pflanzen, die bei Fortsetzung der Auslese aus der Nachkommenschaft von Auslesepflanzen als beste gewählt werden. Diejenigen Pflanzen, welche bei Veredelungszüchtung nach dem 1. Jahr neben den neugewählten Auslesepflanzen in der Nachkommenschaft von Auslesepflanzen des Vorjahres übrig bleiben, liefern Ausleseesaatgut. Als Nachkommenschaft ohne weiteren Zusatz ist immer die unmittelbare Nachkommenschaft einer Auslesepflanze des Vorjahres verstanden. Wird Ausleseesaatgut gesät, so ist die Ernte davon 1. Absaat von Ausleseesaatgut; wird die so gewonnene Ernte gesät, so gibt sie bei der nächsten Ernte 2. Absaat und so fort. Die Absaaten werden zur Vervielfältigung (sog. Vermehrung) von Ausleseesaatgut vorgenommen und es liefert die 3. oder 4. Absaat Saatgut zum Verkauf: Originalsaatgut der betreffenden Züchtung. Bei Neuzüchtung als solcher wird Ausleseesaatgut erst nach erzielter Konstanz gewonnen und umfaßt die Ernte aller Pflanzen der konstanten Nachkommenschaften.

Wenn vom Zuchtgarten gesprochen wird, so ist damit ein abgegrenztes Stück Land verstanden, das keineswegs gartenmäßige Verhältnisse aufweisen soll. Die Bezeichnung Zuchtgarten ist zuerst von v. Rümker gegeben worden. Der Zuchtgarten ist zum Schutz der Pflanzen von einem Gitter umgeben und in ihm wird eine geeignete Fruchtfolge eingehalten. Er ist bei Veredelungszüchtung zur Aufnahme der Auslesepflanzen und oft auch der ersten Nachkommenschaft derselben bestimmt, bei Züchtung spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung zur Aufnahme der Ausgangspflanzen und ihrer ersten Nachkommenschaft, bei Züchtung durch Bastardierung zur Aufnahme der Eltern und der 1. und 2. Generation nach einer Bastardierung. Bei Pflanzen, welche auch im Feldbestand weit voneinander stehen, wird an Stelle eines Zuchtgartens ein Zuchtfeld benützt, ein Stück Feld, das seinen Platz jährlich wechselt und ihn in dem Feld findet, das in der Wirtschaft eben die Frucht trägt. Manche Züchter verwenden auch bei im Feldbestand enger stehenden Pflanzen ein solches wanderndes Zuchtfeld an Stelle eines festgelegten Zuchtgartens.

Erläuterung zu Fig. 4 (siehe Seite 270 und 271).

Angenommen ist bei diesem Schema, daß nur zwei Ausgangspflanzen verwendet wurden; eine größere Zahl würde das Schema weniger übersichtlich erscheinen lassen. Angenommen ist ferner, daß zunächst keine der Individualauslesen ausscheidet. Es ist aber dadurch, daß im dritten Jahr in der von Pflanze 2 ausgehenden Individualauslese nur noch eine Nachkommenschaft und in dieser nur noch eine Pflanze gewählt wurde, angedeutet, daß diese Individualauslese weniger gut ist. Weiterhin ist angenommen, daß nicht nur die erste Nachkommenschaft einer jeden Auslesepflanze getrennt von jenen anderer Auslesepflanzen derselben Individualauslese gehalten wird, sondern es ist der weitestgehende Vorgang dargestellt, bei welchem auch bei den weiteren Absaaten die Trennung aufrecht erhalten wird. Die Flächen mit 1., 2., 3., 4. Absaat sind in Wirklichkeit in der genannten Folge immer größer, es ist dies zum Teil im Schema angedeutet, kommt aber nicht in einem der Wirklichkeit entsprechenden Verhältnis zum Ausdruck, da der Raum dies nicht gestattet; die größeren Flächen sind daher abgebrochen dargestellt. Aus Raumrücksichten sind auch nicht die Flächen für alle Nachkommenchaften und alle Absaaten derselben dargestellt und es ist auf die nicht dargestellten nur durch Ziffern verwiesen.

Die Entwicklung der Ausleseverfahren.

Auslese von Samen und Früchten.

Die ersten züchterischen Maßnahmen bei landwirtschaftlichen Pflanzen wurden im alten Rom ausgeführt, betrafen Getreidearten und erstreckten sich auf die Abscheidung der schwersten Früchte, gehörten daher der Veredlungszüchtung an.¹⁾ Die Verwendung von Früchten als Gegenstand der Auslese war naheliegend, da bei den Getreidearten ja die Frucht der in erster Linie genutzte Teil ist. Die Abscheidung wurde in früheren Zeiten entweder durch das Wurfen oder durch Auslese mit der Hand vorgenommen oder durch das sogenannte Vorschlagen; sie geschah später bei Verwendung von Maschinen durch Windfège, Trieur, Siebzyylinder, Zentrifuge oder

¹⁾ Die Andeutungen über Züchtung in den alten Zeiten Chinas sind zu unbestimmt. Selbst über die gärtnerischen Züchtungen bei Rosen im alten Rom und bei Tulpen in Holland im 17. Jahrhundert ist wenig Bestimmtes bekannt.

4. Jahr	von $\frac{1}{2}/3$	von $\frac{1}{2}/6$	von $\frac{1}{4}/7$	von $\frac{1}{4}/6$	von $\frac{1}{4}/9$	von $\frac{1}{7}/3$	von $\frac{1}{7}/5$	von $\frac{1}{2}/3$	Ernte: 1. Absaat von Ausleseaat- gut $\frac{1}{2}/3$.	Ernte: 2. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}$.
	.	.	.	.	.	.	.	.	Ernte: 1. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}/6$.	Ernte: 2. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{2}{3}$.
	.	.	.	.	.	.	.	.	Ernte: 1. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{2}{3}/8$.	Ebenso für $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{7}$ u. $\frac{2}{7}$
	.	.	.	.	.	.	.	.	Ebenso für $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}/6$, $\frac{1}{4}/9$, $\frac{1}{7}/3$, $\frac{1}{7}/5$ u. $\frac{1}{7}/8$.	
5. Jahr	Auslese im Zuchtgarten nicht weiter dargestellt.								Ernte: 2. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}/3$.	Ernte: 3. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}$.
	1. Absaat nicht weiter dargestellt.								Ebenso für $\frac{1}{2}/6$, $\frac{1}{4}/6$, $\frac{1}{4}/9$, $\frac{1}{7}/3$, $\frac{1}{7}/5$ u. $\frac{2}{3}/8$.	Ernte: 3. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{2}{3}$. Ebenso für $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{7}$ u. $\frac{2}{7}$.
6. Jahr	2. Absaat nicht weiter dargestellt.								Ernte: 3. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}/3$.	Ernte: 4. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{1}{2}$.
	"								Ebenso für $\frac{1}{2}/6$, $\frac{1}{4}/6$, $\frac{1}{4}/9$, $\frac{1}{7}/3$, $\frac{1}{7}/5$ u. $\frac{2}{3}/8$.	Ernte: 4. Absaat von Ausleseaat- gut von $\frac{2}{3}$. Ebenso für $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{7}$, $\frac{2}{7}$.

¹⁾ Erläuterung S. 269.

Kribleur. Als die Kultur anderer Körnerfrüchte auch mehr Beachtung fand, erstreckte sich bei einigen derselben die Auslese auch nur auf die Körner. Bei vielen Züchtungen von Hülsenfrüchten¹⁾ wurde nur die Kornschwere beachtet, erst später auch die Beschaffenheit der Frucht, der Hülse. Ganz anders als diese primitive Auslese ist jene Verwendung von Samen und Früchten bei der Auslese der Züchtung zu beurteilen, die in allerletzter Zeit bei Züchtung auf Kornfarbe bei verschiedenen Pflanzen erfolgte oder jene, die im Anschluß an Pflanzenauslese stattfindet.

Das Wurfen besteht darin, daß man mit der Getreideschaufel Körner aufnimmt und derart wegschleudert, daß dieselben in eine Bogenzone zu liegen kommen. In dieser werden die schwersten Körner mit der kleinsten Oberfläche weiter außen liegen.²⁾ Diese Art der Abscheidung der schwersten Körnern war die bei den Römern geübte, über welche Columella — auf Celsus gestützt — berichtet, wenn er sagt: „wenn die folgende Ernte dann bessere Erträge geliefert hat, wird man mit der Wurfeschaufel sondern und man wird immer das, was wegen seiner Größe und wegen seines Gewichtes sich auszeichnet, zur Saat aufbewahren müssen.“³⁾ Daneben war vielleicht auch Auslese der schwersten Körner mit der Hand (die allerdings mehr die größten Körner trifft) üblich, da die Bemerkung Virgil's „wenn nicht jährlich menschliche Kraft das Größte mit der Hand auswählte“ auf Wurfen wie auf Handauslese bezogen werden kann.⁴⁾

Das Vorschlagen wird durch Aufschlagen der eingefahrenen Garben auf den Boden der Tenne vorgenommen, wobei die schwersten Körner ausfallen. Ähnlich wie die Verwendung derartig gewonnener Saat ist die Benützung des Tennenausfalles, da die von selbst ausfallenden Körner auch wieder^a durchschnittlich schwerere sind. Mit Recht wird gegen das Verfahren geltend gemacht, daß durch die Verwendung solcher Körner die Neigung, die Körner leicht fallen zu lassen, züchterisch erhöht werden kann. Es geschieht dies nicht aus dem Grund, weil die schwereren Körner der Mitte einer Ähre oder der Spitzen einer Rispe leichter als die übrigen ausfallen und solche Körner daher in erster Linie gewonnen werden. Daneben findet eben eine ungewollte Auslese von solchen Pflanzen statt, welche überhaupt leichter die Früchte ausfallen lassen, da solche Pflanzen besonders viel Samen in den Vorschlag liefern. Die Probstei wendet neben guter Felderwirt-

¹⁾ Unter Hülsenfrüchten wird landwirtschaftlich nur ein Teil der Pflanzen der Familie der *Papilionatae* der *Leguminosae* verstanden, jene, welche zur Gewinnung reifer Samen gebaut werden.

²⁾ Wolffenstein, Das Sortieren von Saatgut. Journal für Landwirtschaft, 1877, S. 22.

³⁾ Columella, De re rustica, II, S. 10—12.

⁴⁾ Virgil, Georgica, I. Vers, 197—200.

schaft und dünner Saat dieses Verfahren an.¹⁾ Sie genoß früher einen großen Ruf als eine Saatgut liefernde Gegend. Seitdem eine methodische Züchtung an anderen Orten betrieben wird, hat der Saatgutbezug weit mehr nach diesen gezielt und man geht daher auch in der Probstei jetzt daran eine solche einzuführen.

Bei Verwendung von Maschinen wird nicht immer der schwerste Samen zur Ausscheidung gebracht; solches geschieht bei Windfegen, echten Zentrifugen und dem Kribleur. Bei ersteren werden in dem herabfallenden Körnerstrom die schwersten Körner am wenigsten weit abgelenkt, die leichtesten am weitesten. Bei der Zentrifuge werden dagegen die schwersten Körner am weitesten von der Maschine abliegen, die leichtesten am wenigsten weit; die Zentrifugalkraft wirkt auf die schwereren stärker ein als auf die leichteren. Der Kribleur arbeitet ähnlich wie das Ausdrehen in flachen Schüsseln, bei dem die leichteren Körner nach oben steigen. Kombinierte Trieure, Flachsiebe und Siebsortiercylinder scheiden nur die größten Körner ab und Größe und Schwere fällt zwar bei den Körnern weitgehend, aber nicht vollkommen zusammen. Die Abscheidung der schwersten Körner durch Maschinen wurde zuerst berücksichtigt, als sich in den letzten Jahrzehnten zuerst wieder das Interesse der Züchtung zuwandte. So beschreibt v. Liebenberg die Saatgutwirtschaft Kylberg in Österang in Schweden und erwähnt, daß daselbst nach der Verwendung von Maschinen noch eine Auslese mit der Hand erfolgt.²⁾

Bei allen diesen Maßregeln findet keine gesonderte Weiterführung eines Teiles der gebauten Sorte statt, sondern die Verbesserung erstreckt sich auf den gesamten Pflanzenbestand der Wirtschaft. Aus dem Gesamterdrusch der Wirtschaft an der betreffenden Sorte werden die schwersten Körner ausgesondert und liefern Saatgut für die ganze Fläche und für Verkauf.

Maßregeln von der Art, wie sie bisher besprochen wurden, lassen sich, wenn man die Bezeichnung Darwin's verwendet, meist als solche der unbewußten Zuchtwahl oder, wie ich sagen würde, der unbewußten Veredlungszüchtung bezeichnen, da sie zumeist lediglich mit Rücksicht auf die nächste Ernte vorgenommen werden.³⁾

Der Erfolg derartiger Maßregeln kann nach zwei Richtungen hin gehen. Es kann sowohl eine mit Vererbung verbundene Verbesserung erzielt werden, als auch ein Einfluß auf die nächste Generation, der natürlich bei Fortsetzung derartiger Auslese ständig in Erscheinung tritt. Der Erfolg bei Vererbung kann dadurch erzielt werden, daß die abgeschiedenen schwereren Körner vorwiegend schwereren Frucht-

¹⁾ Nobbe, Handbuch der Samenkunde, 1876, S. 299.

²⁾ Österreichisches Landwirtschaftliches Wochenblatt, 1882, Nr. 49.

³⁾ Darwin, Das Variieren der Tiere und Pflanzen im Zustande der Domestikation, Stuttgart 1878, II, S. 194.

ständen und Pflanzen, welche schwerere Fruchtstände und Körner erzeugen, entstammen. Bei dem Vorhandensein der partiellen Variabilität und bei den Störungen durch Lückigkeit (-Schartigkeit, -Ausbleiben der Entwicklung einzelner Fruchtknoten) gelangen natürlich auch immer solche Körner in die derart abgeschiedenen, die leichteren Fruchtständen durchschnittlich kleinkörnigerer Pflanzen entstammen. Immerhin wird aber die Möglichkeit vorliegen, daß bei fortgesetzter Auslese doch schließlich eine Abscheidung von Typen (Linien) oder Typen-(Linien-)gemischen erfolgt, welche sich durch durchschnittlich größere Körner und Ähren auszeichnen. Die Wahrscheinlichkeit der Abscheidung derartiger Typen (Linien) wird bei Selbstbefruchtern eine größere sein, als die Erzielung derartiger Typengemische bei Fremdbefruchtern. Daß der Erfolg trotzdem nicht im Ertrag zum Ausdruck kommen muß, kann auch darin begründet sein, daß die betreffende Sorte zum Ertrag mehr durch stärkere Bestockung bei kleinen und vielen Körnern in den Fruchtständen beiträgt und kann — bei gleicher Saatmenge — auch durch die kleinere Pflanzenzahl aus großen Körnern bedingt sein.

Der Erfolg in der nächsten Generation kann seine Begründung darin finden, daß schwere Körner mehr Reservestoffe enthalten, kräftigere widerstandsfähigere Keimlinge und Pflanzen liefern. Hierher gehört natürlich auch der Erfolg der Auswahl von Körnern von bestimmten Teilen der Fruchtstände von Getreide oder der Hülse von Hülsenfrüchten. Das äußere Korn des Ährchens bei Hafer ist schwerer als das nächste¹⁾, ebenso ist das untere Korn eines Ährchens bei Weizen schwerer als das folgende oder die mittleren Körner einer Ähre. Die mittleren Körner einer Hülse sind schwerer als die äußeren.²⁾ Alle diese Erscheinungen der partiellen Variabilität haben aber mit Erblichkeit nichts zu tun. Die nächste Generation von Körnern, die von den erwähnten bevorzugten Stellen ausgewählt werden, gibt allerdings durchschnittlich wüchsigere Pflanzen als Körner von den anderen Stellen derselben Pflanze aber lediglich deshalb, weil eben die Körner schwerer und reicher an Reservestoffen sind.

Gegen die einfache direkte Verwendung der aus dem Gesamterdrusch geschiedenen schwersten Körner wurde geltend gemacht, daß dieselbe die Neigung zur Lückigkeit der Fruchtstände steigert. Darauf wurde zuerst von v. Lochow bei Roggen aufmerksam gemacht, indem gezeigt wurde, daß die Körner neben den Stellen, an welchen Fruchtknoten nicht zur Entwicklung gelangten, sich besser ent-

¹⁾ Fruwirth, Fühling's landwirtschaftliche Zeitung 1907. Dasselbst auch weitere Literatur.

²⁾ Fruwirth, Wollny, Forschungen auf dem Gebiete der Agrikulturphysik, XV. Bd.; Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Bd. IV S. 12. Dasselbst auch weitere Literatur.

wickelten und nachgewiesen wurde, daß die Neigung zur Lückigkeit sich selbst bei dem Fremdbestäuber Roggen vererbt.¹⁾ Vererbung von Lückigkeit wurde dann auch bei Gerste nachgewiesen²⁾ und bei Roggen durch weitere Untersuchungen bestätigt.³⁾

Bei der Roheit des ganzen Verfahrens ist es erklärlich, daß Versuche, die mit demselben angestellt wurden, auch widersprechende Erfolge gaben, immerhin tritt der Unwert des Verfahrens in den Versuchen hervor. Buschan vergleicht für eine Anzahl kultivierter Arten die Größe der Samen von prähistorischen Funden und die Größe in Jetztzeit geernteter und ist geneigt, die durchschnittlich erheblichere Größe der letzteren darauf zurückzuführen, daß im Kulturzustand derartige unbewußte Auslese durch Sortierung gewirkt hat.⁴⁾ Der Vergleich leidet darunter, daß man über die Sortenzugehörigkeit der verglichenen Samen natürlich ganz ununterrichtet ist und der Erfolg ebenso durch Sortenwahl aber auch durch ständige Wirkung besserer Kultur erzielt worden sein kann.

Der erste, lange Zeit hindurch fortgeführte Versuch der zur Frage der züchterischen Wirksamkeit der bloßen Ausscheidung schwerer Körner Beziehung hat, ist wohl jener, den P. Nielsen-Tistofte 1882 begann. Bei demselben wurde die Ausgangssaat bei zwei- und sechs- (wohl vierzeiliger) Gerste in zwei Teile geteilt: unsortiert und sortiert. Die Sortierung erfolgte in vier Größenstufen. In den weiteren 18 Jahren wurde immer wieder gleichgerichtete Behandlung vorgenommen, so daß demnach die Ernte von unsortiert wieder unsortiert weiter gesät wurde; die Ernte aus den größten Samen wieder sortiert wurde und die größten Körner zur weiteren Saat verwendet wurden. Gleichsinnig wurde in der Ernte der kleinkörnigen Saat verfahren. Großkörnige Saat gab größte Körner, kräftigere Pflanzen aber nicht deutlich größere Ernten als kleinkörnige; eine Steigerung der Großkörnigkeit und der Ertragsfähigkeit durch die fortgesetzte Auslese ist nicht beobachtet worden.⁵⁾ In den Vereinigten Staaten wurde ein ähnlicher Versuch 1903 begonnen und an der Versuchsstation des Staates Ohio 5 Jahre hindurch mit Weizen durchgeführt. Die Sortierung erfolgte in diesem Fall nach drei Größen und es wurde gleiche Saatgewichtsmenge wie annähernd gleiche Samenzahl auf die gleiche Fläche gesät. Die erzielten Erntemengen waren im fünfjährigen Durchschnitt fast

¹⁾ Deutsche landwirtschaftliche Presse, 1896, Nr. 72.

²⁾ Johannsen, Über Erblichkeit, S. 51. — Fruwirth, Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, IV, 1907, S. 232. — Derselbe, Deutsche landwirtschaftliche Presse, 1908, Nr. 77.

³⁾ Ljung, Einige Untersuchungen über den Ährenbau und die Kornqualität bei Roggen, Malmö 1906. Deutsches Referat, Bot. Centralbl., 1907, I, S. 542.

⁴⁾ Prähistorische Botanik.

⁵⁾ Holtmeier, Landwirtschaftliche Jahrbücher, XXXVII, S. 327, 1907.

gleich, noch mehr das Hektolitergewicht der Ernte. Das Verfahren wird als unbrauchbar für den Züchter bezeichnet. Auch ein vier Jahre hindurch fortgesetzter Versuch von Lyon mit ständiger Auslese schwerer Körner bei Weizen brachte keine Erfolge¹⁾ und veranlaßte den Versuchsansteller zur Pflanzenauslese überzugehen. Soule und Vanatter erhielten bei dreijähriger derartiger Körnerauslese auch keine besonderen Erfolge²⁾, ebensowenig Caluwe bei fünfjähriger solcher Auslese bei Hafer.³⁾ Dagegen hatte ein vier Jahre hindurch bei Weizen fortgesetzter — jenem Lyons gleichartiger — Versuch von Desprez insofern Erfolg, als die Auslese nach Großkörnigkeit immer Mehrerträge lieferte.⁴⁾

Die Sonderung der Körnermasse durch Salzlösungen von verschiedener Dichte scheidet nach spezifischem Gewicht. Gebrüder Dippe in Quedlinburg wollten durch derartige Sonderung zur Steigerung der Glasigkeit gelangen.⁵⁾ Solche Auslese wurde wiederholt versucht, aber immer wieder aufgegeben⁶⁾ und es weisen ältere und neuere Untersuchungen⁷⁾ darauf hin, daß eben der Zusammenhang zwischen spezifischem Gewicht und wertbildenden Eigenschaften ein zu loser ist, um bei Auslese spezifisch schwerer Körner zu einem Erfolg zu führen.

Im Garten- und Obstbau findet sich ein Verfahren, das an die primitive Aussonderung von Körnern der Schwere nach erinnert, nicht, aber auch bei landwirtschaftlichen Pflanzen trifft man ein solches außerhalb der Gruppe des Getreides und der Hülsenfrüchte nicht.

Eine ganz andere Bedeutung als die primitive Aussonderung schwerer Körner aus dem Gesamterdrusch besitzt jene Auslese von Körnern, die nach einer Pflanzenauslese vorgenommen wird. Eine solche Auslese erfolgt bei vielen hochstehenden Zuchtverfahren nach Kornschwere; es wird die durchschnittliche Kornschwere jeder Auslesepflanze berücksichtigt, man verwendet nur die Körner der Pflanzen mit dem höchsten Einzelkorngewicht, oft unter Abscheidung kleinster Körner. Bei Züchtung auf Kornfarbe, wie sie bei Roggen, Klee, Hanf vorgenommen wurde, ist das Korn, die Frucht oder der Same, oft direkt Gegenstand der Auslese, aber meist nur zu Anfang der Züch-

¹⁾ Improving the quality of wheat. U. S. Dep. of Agr., Bulletin 78, 1905.

²⁾ Agr. Exp. Station of Tennessee, Bulletin 4, 1903.

³⁾ Exposé des cultures expérim. Gand 1897—98, S. 12.

⁴⁾ Journal d'agr. pratique. Referat Biedermann's Centralbl. f. Agrikulturchemie, XXV. Heft.

⁵⁾ v. Rümker, Anleitung zur Getreidezüchtung, Berlin 1889, S. 103.

⁶⁾ Wolfenstein, Das Sortieren von Saatgut. Journal für Landwirtschaft, 1887, S. 7.

⁷⁾ Clark, Bulletin 256, 1904, New York, Stat. Agr. Exp. Station.

tung. Meist geht man später von Auslese von Körnern der bestimmten Farbe zu Auslese von Pflanzen und Nachkommenschaften mit stärkerer Vertretung der betreffenden Farbe über. Wieder anders liegt die Sache auch bei Züchtung durch Bastardierung in den Fällen, bei welchen Mendel'sche Spaltungen schon am Samen erkannt werden können, indem Endosperm- oder Embryoxenien vorliegen. In diesem Fall ist die Auslese von Samen Auslese von Pflanzen. Ein Erbsensamen mit grünen Keimlappen, der nach Bastardierung einer grün- mit einer gelbkeimlappigen Erbse an einer Pflanze der ersten Generation auftritt, ist eben schon eine Pflanze der zweiten Generation.

Auslese von Fruchtständen.

Die Auslese von Fruchtständen ist auf Getreide beschränkt geblieben. Bei diesem wählte man frühzeitig Ähren oder Rispen der Schwere nach aus, trieb Veredlungszüchtung mit Massenauslese von Fruchtständen. Eine solche Ährenauslese finden wir, wenigstens als Beginn der Arbeiten zu einer Verbesserung der eigenen Frucht, auch schon bei den Römern angedeutet, denn der Stelle bei *Columella*, die im vorangegangenen Abschnitt angeführt worden ist, geht eine andere voran, die besagt, daß es dort, wo die Frucht nur mittelgut ist, nötig wird, daß man jedesmal die besten Ähren ausliest und ihre Samen aufbewahrt. Trotz des „jedesmal“ macht der nächste (S. 272 citierte Satz) es wahrscheinlich, daß die Ährenauswahl nur zu Beginn geschah, später nur Körnerauslese aus dem Gesamterdrusch durch Wurfen.¹⁾ Eine Äußerung Varro's wird zwar auch als Beweis dafür, daß die Römer eine Ährenauslese bei den Körnern vornahmen, angeführt, kann aber wohl nur als Beweis dafür angesehen werden, daß die Flächen, von welchen Saatgut gewonnen werden sollte, ausgewählt wurden.²⁾

Die ersten Anfänge mit Auslese von Fruchtständen bei zielbewußter Veredlungszüchtung, bei dem, was Darwin methodisch Zuchtwahl nennt, fallen in den einzelnen Ländern in die Zeit nach 1860 und erfolgten allem Anschein nach unabhängig voneinander.

In England wurde zu Beginn der 60er Jahre von Taylor der Square head aufgefunden³⁾, der von 1868 ab von Sholey, von 1869

¹⁾ *Columella*, De re rustica, II, S. 10—12.

²⁾ Varro, De re rustica, I, S. 52. 1.

³⁾ v. Rümker, Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 1893, S. 351.

ab von S. D. Shiriff einer Veredlungszüchtung durch Ährenauslese unterworfen wurde.

Eine zielbewußte Veredelungszüchtung mit Ährenauslese wurde bei Getreide wohl zuerst 1865 von S. Mokry in Gerendacs in Ungarn eingeleitet. Das Verfahren hat mit jenem Hallet's nur das gemein, daß die Auslese fortgesetzt wurde und daß die Auslesepflanzen im Zuchtgarten sehr großen Standraum erhielten. Bei Mokry wurde ihnen ein solcher von 16,3 qcm zugewiesen, der Boden wurde tief aufgegraben und es wurde außerdem absichtlich stark direkt gedüngt, während Hallet nur je im Vorjahr düngte. Die Auslese war, wie erwähnt, eine Ährenauslese und wurde als Massenauslese durchgeführt. Eine Beschreibung des Verfahrens wird von Haberlandt gegeben ¹⁾, den Mokry um Rat frug, später auch von Werner. ²⁾

Danach wurde und zwar bei Weizen mit ausgelesenen vollkommensten — das ist in diesem Fall langen, körnerreichen Ähren — begonnen, die Körner dieser in der „ersten Schule“ in Entfernung von 16:33 auf stark gedüngtem, tief aufgegrabenem Boden ausgelegt und die Pflanzen im Frühjahr zweimal behackt.

Bei der Ernte wurden wieder die körnerreichsten, längsten Ähren ausgelesen, ihre Samen in die „erste Schule“ des nächsten Jahres gebracht und so fort. Die restlichen Ähren, die neben den besten gewonnen wurden, gaben Körner, die für das je folgende Jahr in der zweiten Schule in 0,30 cm weiten Reihen (15 Liter Saatgut pro ha) gedrillt wurden. Die Ernte der zweiten Schule lieferte Saatgut, das für das je folgende Jahr in der dritten Schule, wieder auf 0,30 cm, aber schon dichter (55—60 Liter Saatgut pro ha) gesät wurde. Die Ernte der dritten Schule wurde zur Ansaat der Felder verwendet.

Wir finden hier schon das bei Veredlungsauslese mit Fortsetzung der Auslese übliche Verfahren. Die erste Schule ist gleich dem Zuchtgarten, in dem der ständig unter Auslese gehaltene Stamm weiterläuft, der jährlich einen Zweig zur Vervielfältigung abgibt. Die zweite und dritte Schule tragen 1. und 2. Absaat von Auslesesaatgut und entsprechen dem, was heute erstes und zweites Vervielfältigungs- (auch Vermehrungs-)feld genannt wird. Die Ernte der dritten Schule gibt Saatgut für den Bedarf der Wirtschaft: 2. Absaat von Auslesesaatgut; während das in der Wirtschaft gewonnene Saatgut: 3. Absaat von Auslesesaatgut dann zum Verkauf bestimmt ist.

In Deutschland wurde die Getreidezüchtung durch Rimpau mit zielbewußter Ährenauslese eingeleitet. Er begann 1867 bei Probsteier Roggen mit Auslese von Ähren und züchtete aus demselben — später zur Massenauslese von Pflanzen, 1896 zur Individualauslese über-

¹⁾ F. Haberlandt-Hecke, Der landwirtschaftliche Pflanzenbau, 1879, S. 727.

²⁾ Werner, Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1880, S. 587.

gehend — den langährigen spätreifenden Schlanstedter Roggen, der dann von anderen besseren Sorten verdrängt wurde.¹⁾ Eine Reihe deutscher Züchter folgte dem Beispiel Rimpau's und züchtete entweder nur durch Fruchtstandauslese oder durch sogenannte verschärfte Ährenauslese.²⁾ Letztere besteht darin, daß typische schwere Fruchtstände ausgelesen werden und von diesen dann Körner der bevorzugten Partien.

Gleichwie in Deutschland war auch in Österreich bei Getreide die Korn- und Fruchtstandauslese noch in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts herrschend und erst seit nach der Jahrhundertwende finden sich dokumentierte Arbeiten mit Auslese von Pflanzen.³⁾

In Rußland begann Peplowski bei Weizen mit Veredlungszüchtung durch Ährenauslese, die aber mit Versuchen einer Beeinflussung durch besondere Kulturverhältnisse verbunden war. Er säte die Körner der besten Ähren in Töpfe und pflanzte vor Eintritt des Frostes in gedüngte Erde aus. Die besten Körner der besten Ähren wurden durch Chlorecalciumlösung abgeschieden.⁴⁾

In Italien ging man daran, das Verfahren der Ährenauslese durch Preise in den Landwirtschaftsbetrieb einzuführen und zwar wurde daselbst eine zeitlich begrenzte Auslese in Anwendung gebracht. Das erste derartige Preisausschreiben wurde von der Accademia economica agraria dei Georgofili in Florenz 1892 erlassen, ein weiteres von der Akademie für Landwirtschaft in Turin 1897.⁵⁾ Im ersten Jahre waren lange, gut gebaute, schwere und reich mit Samen besetzte Ähren von gut bestockten Pflanzen des Feldes zu entnehmen. Die geforderte Berücksichtigung der Bestockung bringt das Verfahren der Auslese von Pflanzen näher. Von den Ähren sollten nur die Körner der Mitte, nach Ausscheidung der kleinsten, verwendet werden. Die Körner waren auf 100 qm und zwar mindestens 23:23, auf reicheren Böden 30:30 cm weit voneinander entfernt zu bauen und es war im 2. Jahr eine gleiche Auslese vorzunehmen, deren Samen im nächsten Jahr wieder in gleicher Weise auf einer Fläche von 100 m zu bauen waren. Die daselbst folgende 3. Auslese sollte Saatgut für feldmäßige Besäung von 300 qm liefern und es sollte daneben eine gleich große Fläche, auch feldmäßig, mit Samen von unausgelesen weiter gebauten Pflanzen besät werden. Der weite Standraum und die vorgeschriebene reiche Düngung hatte gewiß auf die je nächste Ernte gewirkt,

¹⁾ Jahrbuch der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1900, S. 417.

²⁾ v. Rümker, Getreidezüchtung, S. 61.

³⁾ Fruwirth, Landwirtschaftliche Pflanzenzüchtung und ihre Stätten in Österreich, Wien 1896.

⁴⁾ Sempolowski, Deutsche Landwirtschaftliche Presse, 1903.

⁵⁾ Atti della R. Acc. dei Georgofili Firenze, 1895, 1900 — Annali della R. Acc. d'Agric. di Torino, 1901.

so daß ein Vergleich des vererbbaeren Erfolges besser erst nach einem Jahr mit normalem Anbau hätte erfolgen sollen. Eine Reihe italienischer Züchter züchtet unabhängig von Preisbewerben durch Ähren- oder bei Reis Rispenauswahl.¹⁾

Auch in Frankreich erhielt sich die Fruchtstandauslese lange Zeit auch in eigentlichen Züchtungsbetrieben; Vanha berichtet bei den Vilmorin'schen Getreidezüchtungen, soweit sie nicht Bastardierungen sind, nur von einer 1873 begonnenen Korn- und Ährenauslese. Ebenso gibt er für Desprez zu Capelle bei Templeuve an, daß dieser seit Ende der 70er Jahre Ähren- mit Kornauslese betreibt.²⁾ P. Genay berichtet 1892 über eine seit 15 Jahren betriebene Züchtung bei dem Weizen rouge d'Alsace, die in Auslese von Ähren und Gewinnung des Vorschlages aus demselben bestand.³⁾ v. Rümker erwähnt in seinem Reisebericht auch nur Ähren- und Kornauslese.⁴⁾ Ich selbst hatte bei meinen Besuchen Frankreichs die Fruchtstandauslese als herrschend gefunden⁵⁾ und erst im letzten Bericht konnte ich auf vereinzelte Beachtung der Pflanze als Gegenstand der Auslese hinweisen.

Die eigentlichen Züchter der Vereinigten Staaten, meist Beamte der Versuchsstationen, sind überwiegend zu Individualauslese mit Auslese von Pflanzen übergegangen, für den gewöhnlichen Wirtschaftsbetrieb wird aber das Verfahren der Fruchtstandauslese bei Veredlungszüchtung durch Massenauslese empfohlen und weitgehend geübt. So heißt es als Zusammenfassung der bezüglichlichen Berichte der Versuchsstationen von Kalifornien, Nebraska und New York Cornell⁶⁾: „The simplest application of the method of selecting large heads consists in examining the field of a good standard variety and gathering a quantity of the largest heads, at least enough to make a bushel or more of seed. The following year this seed is grown in an increase-plot and when the grain is ripe it is again gone over and enough large heads gathered for a similar size-plot the third year. The remainder of the crop of this increase plot is used to plant the general crop of the third year. This method continued year after year will result in good seed for planting.“

¹⁾ Näheres Fruwirth, Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft, 1903, Nr. 39, 40, 41.

²⁾ Vanha, Die Getreide- und Rübensamenzucht in Deutschland und Frankreich. Österreichisch-ung. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft, 1891, 5. und 6. Heft.

³⁾ Journal d'agr. prat., 1892, S. 393.

⁴⁾ v. Rümker, Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1896, Stück 13.

⁵⁾ Fruwirth, Österreichisches Landwirtschaftliches Wochenblatt, 1890, Nr. 14, 15, 17. — Wiener Landwirtschaftliche Zeitung, 1900.

⁶⁾ Experiment Station Work. Farmers Bull. 334, U. S. Dep. of Agric. 1908.

Die Auslese von Fruchtständen bildet gegenüber jener von Samen und Früchten bereits einen erheblichen Fortschritt. Nicht nur deshalb, weil sie es möglich macht bei Veredlungszüchtung, bei einem Verfahren, das v. Rümker Ährenauswahl mit verschärfter Auslese genannt hat, Gewicht der Ähre und Gewicht der Körner zu berücksichtigen. Die Auslese von Fruchtständen läßt eben auch den Typus des Fruchtstandes erkennen und so — da derselbe in der Regel innerhalb einer Pflanze einheitlich ist — alle die Besonderheiten, welche bei diesen in Betracht kommen, bei der Auslese verwenden. Bis zu einem gewissen Grad reicht die Fruchtstandauslese selbst bei Auslese weiterer nicht morphologischer Eigenschaften an die Pflanzenauslese heran. Eine Auslese nach Frühreife läßt beispielsweise auch bei Fruchtstandauslese weitgehend sicher die frühreifsten Pflanzen auslesen.

Bei Fruchtstandauslese begegnet man, wie aus den Ausführungen hervorgeht, zum erstenmal auch schon der Abspaltung eines Zweiges aus der zu züchtenden Form. Die Auslese der Fruchtstände kann allerdings jährlich aus dem Feldbestand erfolgen, das übliche Verfahren ist aber dasjenige, bei welchem nur das erstemal die Fruchtstände auf dem Felde entnommen werden. Die Körner dieser Fruchtstände werden dann auf einem besonderen Stück Land für sich gesät und die nächste Auslese von Ähren erfolgt auf diesem Stück. Die dann gewählten besten Ähren liefern Saatgut zur Besäung eines neuen solchen Stückes im nächsten Jahr, während die Körner der übrigen Ähren des Stückes Saatgut für die Felder der Wirtschaft, eventuell zum Verkauf liefern. Derartig wird weiterhin verfahren und es läuft demnach eine Generationenfolge von Pflanzen auf dem besonderen Stück weiter und zweigt jährlich Pflanzen ab, deren Körner zur Besäung der Feldfläche dienen.

Wenn eine Auslese von Fruchtständen, die fast immer Massenauslese ist, Erfolg gibt, so ist derselbe auf die Abscheidung von Formen zurückzuführen, die morphologisch unterscheidbar sind, oder aber sich nur durch die Leistung voneinander unterscheiden und besser sind als der Durchschnitt des Formengemisches, der Population. Soll nur eine Formentrennung nach morphologischen Eigenschaften vorgenommen werden, so kann das Verfahren unbedingt, wenn auch — besonders bei Fremdbefruchtern — langsam, zum Ziele führen. Langsamer als Individualauslese wird es deshalb wirken, weil die weiter-spaltenden Nachkommenschaften von zufälligen Bastardierungen oder spontanen Variationen morphologischer Eigenschaften oder von Zwischenrassen nicht von konstanten Nachkommenschaften getrennt werden und ein Überblick über die Leistungen der einzelnen Nachkommenschaften nicht gewonnen werden kann. Daß die Auslese schwerster Fruchtstände in einem morphologisch einheitlichen Formen-

kreis einen Erfolg bringen kann, wird durch weiter unten angeführte Versuche nahe gelegt. Ein erblicher Erfolg kann dadurch eintreten, daß schwere Fruchtstände von wüchsigeren Pflanzen stammen, so indirekt immer wieder solche ausgelesen werden und es dadurch zu einer Auslese von Typen (Linien) oder geschlechtlichen Typen-(Linien-)mischungen mit durchschnittlich schwereren Fruchtständen kommt. Ein Erfolg für die nächste Ernte kann darauf zurückzuführen sein, daß die schweren Fruchtstände von üppigen Pflanzen stammen, die vielleicht nur Standortsmodifikationen durch bessere Ernährung sind, aber doch gut ernährte Samen tragen, deren Einfluß in der nächsten Generation zur Geltung kommt.

Versuche, die alle nur in Populationen vorgenommen wurden und weiter erblichen Erfolg von Erfolg für die nächste Generation nicht trennen, zeigten meist Wirkung. Liebscher, Edler und v. Seelhorst erzielten durch eine Auslese bei Weizen, bei welcher 6 Jahre hindurch immer wieder Körner ausgelesener schwerster Ähren verwendet wurden, höheres Gesamt- und Ährengewicht als bei ebensolcher Auslese kleiner Ähren.¹⁾ Soule-Knoxville, Tennessee, hatte bei Mediterranean-Weizen eine mehrfach variierte Auslese 6 Jahre hindurch fortgeführt. Es wurden immer wieder große Körner großer Ähren, kleine Körner großer Ähren, große Körner mittellanger Ähren, kleine Körner mittellanger Ähren, große Körner kleiner Ähren und kleine Körner kleiner Ähren ausgelesen und bei der letzterwähnten Auslese die besten Ergebnisse erzielt.²⁾

Wie schon am Eingang dieses Abschnittes erwähnt, blieb die Verwendung von Fruchtständen als Gegenstand der Auslese auf Züchtung von Getreide beschränkt. Bei einer Beurteilung des Wertes der erwähnten Verfahren darf nicht vergessen werden, daß sowohl Körner- als Fruchtstandauslese fast ausnahmslos Massenauslese war und sich das Zurückstehen der Korn- und Fruchtstandauslese gegenüber der Pflanzenauslese mit dem Zurückstehen der Massen- gegenüber der Individualauslese vereint.

In letzter Zeit ist man nun bei einzelnen Ausleseverfahren und zwar auch nur bei Veredlungszüchtung von Getreide wieder zu der Auslese von Fruchtständen zurückgekehrt, aber diese Auslese ist in den meisten Fällen ganz anders zu beurteilen. Sie besteht darin, daß man nach einer Auslese von Pflanzen von diesen nur die Körner einzelner Fruchtstände wählt. Es ist demnach gewissermaßen eine verschärfte Pflanzenauslese, deren Wert im nächsten Abschnitt erörtert wird. In einem Fall hat man bei einem sonst hochstehenden Aus-

¹⁾ Journal für Landwirtschaft, 1897, S. 241.

²⁾ Bericht Wittmack's: Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1905, S. 3.

leseverfahren bei Getreidezüchtung aber auch zu der Voranstellung der Fruchtstandauslese zurückgegriffen, nämlich bei dem ear to row-Verfahren einzelner Züchter der Vereinigten Staaten.

Auslese von Pflanzen.

Wenn schon die Fruchtstände mehr von den wertbildenden Eigenschaften erkennen lassen, so läßt natürlich die ganze Pflanze noch mehr Einblick in die Leistungen derselben gewinnen. Mit der Wahl ganzer Pflanzen war ein weiterer Fortschritt in der Ausführung der Auslese erreicht.

Bei Auslese nach Bastardierung lag es nahe die ganze Pflanze zu verwenden und es geschah dies bereits bei den ersten Bastardierungen landwirtschaftlicher Pflanzen, die ausgeführt wurden. Der Gärtner Knight, der 1787 mit Erbsenbastardierung begann, ging bald danach auch auf Bastardierung von Weizen — eigentlich mehr auf ein Aufsuchen spontaner Bastarde bei diesem — über und bei der folgenden Auslese wurde die Pflanze herangezogen. Immerhin treffen wir auch bei Auslese nach Bastardierung Verwendung der Fruchtstände als Gegenstand der Auslese, so bei Rimpau's ersten Bastardierungen. Auch bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen wird man mehr auf die ganze Pflanze als Auslesegegenstand verwiesen, da es sich immer nur um eine aufgefundene Pflanze handelt oder um einige wenige. Wir finden die Benützung solcher daher auch schon bei dem ersten Züchter durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften, Shirreff. Aber auch der erste Züchter durch Formentrennung, Le Couteur, verwendete die Pflanze als Auslesegegenstand.

Shirreff in Haddington suchte zuerst auffallende Pflanzen in Feldbeständen, baute ihre Nachkommenschaft rein, ohne weitere Auslese weiter und trieb damit Züchtung durch Formentrennung oder Züchtung durch Auslese von Naturspielen, wie er die spontanen Variationen morphologischer Eigenschaften nennt. So wurde 1819 der Mungoswell-Weizen, 1832 der Hopetown-Hafer, je von einer aufgefundenen Pflanze ausgehend, begründet, später, 1856 systematische Formentrennung auf gleichem Weg vorgenommen. Nachdem Weizen ausgesprochen, Hafer etwas weniger ausgesprochen Selbstbestäubung zeigen, ist es möglich auf diesem Weg der einmaligen Auslese durchaus einheitliche Formenkreise zu erlangen, die, wenn zufällig keine der seltenen Bastardierungen eintritt — eine Möglichkeit, die Shirreff

schon erkannte — reinen Linien entsprechen. Bei Le Couteur¹⁾ ging von 1823 ab die Züchtung durch Formentrennung von guten Körnern schöner Ähren aus, die als morphologisch abweichend in einem Bestand gefunden wurden. Tatsächlich wäre dies demnach Kornauslese, ich möchte die Auslese aber doch als Pflanzenauslese bezeichnen, da doch ein Individuum den Ausgang bildet und in erster Linie die deutlich abweichende Beschaffenheit der Pflanze oder doch wenigstens ihrer Fruchtstände für die Auswahl maßgebend war und bei morphologischen Eigenschaften die Einheitlichkeit innerhalb der Pflanze ja Regel ist.

Bei der Veredlungszüchtung der Rübe fiel es niemanden ein mit Auslese von Früchten oder Fruchtständen zu beginnen, man begann sofort mit Auslese des Rübenkörpers selbst, den man wohl vom Standpunkt der Auslese aus als der Pflanze gleichwertig betrachten kann, da er ja Wurzel und Stamm entspricht und vielfach die Blätter auch zur Beurteilung herangezogen werden. Man sieht Achard oft als den Begründer der Zuckerrübenzucht an, aber es scheint, daß es sich bei ihm 1786 doch mehr um vergleichenden Anbau verschiedener Formen und Herkünfte gehandelt hat²⁾, wobei er später von 1802 ab die einzelnen derselben gegen gegenseitige Fremdbestäubung schützte. Als erster Züchter, welcher eine Auslese der Rübenkörper nach dem Äußeren systematisch betrieben hat, kann in Deutschland Ziemann genannt werden, der in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts arbeitete³⁾ in Frankreich P. Ph. A. Lévêque de Vilmorin, der ungefähr um die gleiche Zeit damit begann und L. L. de Vilmorin, der seit 1850 die Auslese auf die Ermittlung des Zuckergehaltes des Rübenkörpers gründete.⁴⁾ Alle diese Züchter arbeiteten gleich ihren Nachfolgern mit dem Rübenkörper.

Bei Veredlungszüchtung von Körnerfrüchten finden wir die Beachtung der Pflanzen fast gleichzeitig bei zwei Züchtern zuerst angewendet, bei Hallet und dem eben genannten L. L. de Vilmorin. Bei Hallet, der Weizen züchtete, ist die Verwendung der Pflanze als Auslesegegenstand eigentlich mehr Mittel zum Zweck, denn er zielt auf das Korn ab, allerdings wieder um die produktivste Pflanze zu finden. Weil er das beste Korn der besten Ähre der besten Pflanze nicht durch Vergleich der Pflanzen finden kann, baut er eben alle Körner der besten Pflanze. Er wählt dann, durch Vergleich der geernteten Pflanzen nach ihrer Bestockung, Ährengroße, ihrem Kornbesatz, die beste Pflanze und schließt nun, daß diese dem besten Korn

¹⁾ Costantin: *Le transformisme*, 1906, S. 76.

²⁾ Briem, *Blätter für Zuckerrübenbau*, 1899, S. 346.

³⁾ v. Rümker, *Die Zuckerrübenzüchtung der Gegenwart*, Berlin 1894, S. 2.

⁴⁾ M. L. L. de Vilmorin: *Notices sur l'amélioration des plantes par les semis*. Paris 1886.

der Ernte des letzten Jahres entstammte. Bei Hallet finden wir als Besonderheiten seines Zuchtverfahrens sehr weiten Standraum für die Einzelpflanze und gute Ernährung derselben, demnach auch wieder eine, wenn auch nicht besonders beabsichtigte Beeinflussung der Pflanze durch äußere Verhältnisse und wir finden weiter Fortsetzung der Auslese. Seine Zuchtgrundsätze sind die folgenden:

„1. Jede völlig entwickelte Pflanze, sei es nun Weizen, Hafer oder Gerste, zeigt einen Fruchtstand, welcher in produzierender Kraft allen übrigen dieser Pflanze überlegen ist.

2. Jede solche Pflanze enthält ein Korn, welches beim Versuch mehr produzierende Kraft als irgendein anderes zeigt.

3. Das beste Korn in einer gegebenen Pflanze befindet sich in ihrem besten Fruchtstand.

4. Die größere Lebenskraft dieses Kornes ist in verschiedenen Graden auf seine Nachkommenschaft übertragbar.

5. Durch wiederholte sorgfältige Auswahl wird die Vorzüglichkeit vergrößert.

6. Die Verbesserung, welche anfangs eine schleunige ist, nimmt schrittweise nach einer langen Reihe von Jahren an Betrag ab und wird eventuell soweit gehemmt, daß praktisch gesprochen eine Grenze für die Verbesserung in der gewünschten Eigenschaft erreicht ist.

7. Durch weitere, fortgesetzte Auswahl wird die Verbesserung erhalten und praktisch ist ein fester Typus das Resultat.“¹⁾

Die schärfste Hervorhebung der Bedeutung der Pflanze als Auslesegegenstand finden wir bei L. L. de Vilmorin gelegentlich der Mitteilung eines Versuches mit Rapszüchtung: „C'est seulement en opérant sur les individus uniques que l'on peut constituer, dans les plantes une noblesse, c'est-à-dire, une série d'individus dans lesquels les qualités individuelles se transmettent, sans altération, de génération en génération.“²⁾ Es scheint aber, daß Vilmorin derartige Züchtung bei landwirtschaftlichen Pflanzen — von Rüben abgesehen — nur versuchsweise durchführte, nicht zur Erzielung praktisch verwertbarer Ergebnisse. Es wird wenigstens aus späterer Zeit nichts über Rapszüchtung und Getreidezüchtung mitgeteilt und viel später erfahren wir von einer Durchführung der Getreidezüchtung durch Korn- und Ährenlese durch das Haus Vilmorin.

Bruun v. Neergaard in Svalöf hatte seit 1886—1890 bei Veredelungszüchtung bei Getreide auch die Pflanze — gelegentlich wohl nur noch die Ähre — als Auslesegegenstand verwendet. Er führte Massenauslese und Fortsetzung der Auslese durch. Zuerst wurden

¹⁾ Hesse, Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1876, S. 862.

²⁾ L. L. de Vilmorin, Bulletin des séances de la soc. imp. et centrale d'agr. 2. Serie, S. 77, 1858.

die Pflanzen, dann der Fruchtstand, dann das Korn untersucht, genommen wurden die Körner der Ährenmitte guter Ähren.¹⁾ Sein Hauptverdienst ist die Einführung von Methoden zur genaueren Feststellung einzelner Eigenschaften und die Schaffung von verschiedenen Apparaten, welche die Vornahme dieser Feststellungen erleichtern. So wurde für die Feststellung der Dichte des Besatzes der Ähre mit Ährchen und Körnern eine Berechnung eingeführt, welche das Moment der verschiedenen Längen der Ähren ausschaltet und einen sofortigen Vergleich verschiedener Ähren zuläßt.²⁾ Zur Durchführung der dabei notwendigen Berechnung wurde der Klassifikator konstruiert. Neergaard nahm eine so genaue Analyse der Elitepflanzen vor, daß ihm auch feinere morphologische Eigenschaften nicht entgingen. So schuf er bei Gerste die Grundlage für die spätere Züchtung durch Formentrennung bei dieser Pflanze, indem er die feineren Unterschiede in der Ausbildung der Basalborste, der *Lodiculae* und der mittleren Seitennerven der Rückenspelze feststellte. Bei Neergaard hatten diese Merkmale gewissermaßen nur negativen Wert, es wurden alle Pflanzen einer Zucht, welche abweichende Merkmale zeigten, ausgeschieden. Aber er unterschätzte auch die von H. Nilsson eingeführte Methode nicht, die von diesem noch unter seiner Leitung bei Hülsenfrüchten angewendet worden ist. Nilsson nahm bei diesen Pflanzen Formentrennung nach botanischen Merkmalen vor, die damals nur als Vorarbeit für die Vornahme fortgesetzter Auslese bei Veredlungszüchtung dienen sollte. Neergaard äußerte sich über diese Züchtungs- und Ausleseart, welche Formentrennung durch Individualauslese mit einmaliger Auslese von Individuen entsprach, dahin, daß „dieselbe möglicherweise noch eine neue Richtung auf dem Gebiete der Pflanzenveredlung angeben“ könnte.¹⁾

Wenn die Pflanze zum Gegenstand der Auslese gemacht wird, ist es möglich die Samen der ganzen Pflanze zu verwenden oder aber nur jene einzelner Teile derselben. Ob der letztere Vorgang eine wertvolle Weiterbildung des Ausleseverfahrens ist, wird wohl hauptsächlich nach der Züchtungsart, bei welcher er Anwendung findet, zu beurteilen sein. Es sei daher zuerst das Verfahren bei Veredlungszüchtung, dann bei Neuzüchtung betrachtet.

Von einzelnen Züchtern werden, wenigstens bei Veredlungszüchtung, von den ausgewählten Pflanzen nicht alle Körner oder doch alle Körner nach Abscheidung kümmerlicher gewählt, sondern nur

¹⁾ Neergaard, Spezialkatalog der Kollektivausstellung des allgemeinen Schwedischen Saatzuchtvereins Svalöf. Malmö 1890.

²⁾ Ährchendichte D:
$$\frac{\text{Zahl der Ährchen der Ähre} \times 100}{\text{Ährenspindellänge in mm}}$$
. In gleicher Weise wird die Dichte des Kornbesatzes d berechnet: Zahl Körner der Ähre: d = Ährenspindellänge: 100.

die Körner einzelner Teile. Es geschieht dies, wie aus den Ausführungen hervorgeht, besonders bei Getreide, es werden nur die Körner des mittleren Teiles der Ähren oder nur die Körner des kräftigsten Halmes u. dgl. gewählt. Ich habe die Ansicht geäußert, daß bei einer fortgesetzten Auslese von Pflanzen oder von Pflanzen und Nachkommenschaften ein solches Herausgreifen einzelner Teile der ausgelesenen Pflanzen nicht notwendig erscheint. Die Begründung für diese Ansicht ist durch die, durch Untersuchung nachgewiesene, weitgehende Einheitlichkeit innerhalb einer Pflanze und die durch Versuche nachgewiesene weitgehend einheitliche Vererbung der einzelnen Teile einer Pflanze gegeben. Eine vollkommene Einheitlichkeit innerhalb der Pflanze kann natürlich bei Eigenschaften, welche der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind, nicht erwartet werden, da die partielle Variabilität vorhanden ist.

Bei Eigenschaften, welche der fluktuierenden Variabilität unterworfen sind, wurde gezeigt, daß der Variationsspielraum innerhalb einer Pflanze kleiner ist, als bei Vergleich verschiedener Pflanzen derselben Form.¹⁾ Daß diese partielle Variabilität eine Gesetzmäßigkeit zeigt, ist bekannt, aber für die Auslese ohne Bedeutung. Der Stickstoffgehalt ist z. B. je nach dem Sitz der Körner in einer Ähre abgestuft verschieden, ebenso sind die Korngewichte immer oben und unten in der Ähre niedriger als in der mittleren Partie, es sind die Körner der späteren Halme bei Getreide durchschnittlich leichter als jene der erstangelegten.²⁾ Es läßt sich aber durch ständige Auslese der Körner des Haupthalmes ebensowenig ein erblicher Erfolg erzielen, wie durch ständige Auslese der schwereren Außkörner der Haferrispen. Von mir durchgeführte Vererbungsversuche mit Außen- und Innkörner verschiedener Haferpflanzen³⁾ zeigten, daß zwar ein Einfluß auf die nächste Generation dadurch geübt werden kann, daß die Körner von einer Stelle genommen werden, an welcher sie besser ernährt werden, daß aber bei etwas größerer Verschiedenheit in der Individualität der Ausgangspflanzen diese auch in der Nachkommenschaft der Samen eines jeden Teiles zum Ausdruck kommt. Hartley fand ebenso die gleiche Vererbungstendenz bei den Körnern ver-

¹⁾ Hopkins für Fett- und Proteingehalt bei *Zea Mays*: Agric. Exp. St. University of Illinois, Bull. 53, 1898, S. 149. Johannsen für Stickstoffgehalt bei *Hordeum distichum erectum*: Mitteil. Carlsberger Laboratorium, 1899, S. 288. Jalowetz für *Hordeum distichum* und Stickstoffgehalt. Wochenschrift für Brauerei, 1904, S. 840. Lyon für *Triticum sativum* und Proteingehalt: Bull. 78, Bureau of Plant Industry U. S. Dep. of Agriculture. Fruwirth für Fett bei *Brassica Napus rapifera*: Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 1903, 10. Heft.

²⁾ Literatur in Fruwirth: „Einmalige“ zusammengestellt.

³⁾ Fruwirth, Einmalige.

schiedener Kolben je einer Maispflanze.¹⁾ Nach dem Berichte des amerikanischen Komites für Getreidezüchtung nimmt man in Amerika allgemein die gleiche Vererbungskraft für die einzelnen Fruchtstände oder anderen Teile einzelner Pflanzen an; es sind dem Komite aber keine besonderen Versuche zu dem Gegenstand bekannt.

Alle die besonderen Wirkungen, welche bei individueller kleiner Variabilität bei Wahl von Körnern bevorzugter Teile einer Pflanze auf die unmittelbare Nachkommenschaft derselben zum Ausdruck kommen, sind nur solche, welche Johannsen als „persönliche Wirkungen“ bezeichnet hat.²⁾ Solche Wirkungen haben aber keine züchterische Bedeutung. Es ist aber auch nicht darauf zu vergessen, daß durch Ausscheidung größerer Mengen von Samen der Auslesepflanzen das Bild bei der so wichtigen Nachkommenbeurteilung getrübt wird.

Unrichtig wäre es die Möglichkeit eines Fortschrittes durch Wahl der Körner einzelner Teile bei Veredlungszüchtung vollständig zu leugnen. Eine solche Möglichkeit erscheint durch Veränderung in der Pflanze gegeben. So wie spontane Variationen morphologischer Eigenschaften sich an einzelnen Teilen einer Pflanze als sogenannte Knospenvariationen oder vegetative Mutationen zeigen können, ebenso ist es möglich, daß auch Linienmutationen von einzelnen Achsen ausgehen. Nun sind aber die spontanen Variationen morphologischer Eigenschaften leicht erkennbar, wogegen sich die Linienmutationen, die in einzelnen Achsen auftreten, ganz der Beobachtung entziehen. Um eine — doch gewiß seltene — Linienmutation zu entdecken, müßten ständig bei allen Auslesepflanzen die Nachkommenschaften nach Fruchtständen getrennt gehalten werden, was einer ganz erheblichen Erschwerung der Auslesearbeit gleichkommt; die bloße Verwendung der Samen bevorzugter Teile würde zu diesem Zwecke nicht genügen. Nach dem Gesagten trete ich dafür ein, daß bei Veredlungszüchtung alle Körner der Auslesepflanze — nach Ausscheidung kümmerlicher — zur Nachkommenprüfung und Ermöglichung weiterer Auslese von Elitepflanzen verwendet werden.

Bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Bastardierung wird die Verwendung einzelner Teile einer Pflanze in bestimmten Fällen eher am Platze sein. Eine spontane Variation kann als Knospenvariation oder vegetative Mutation auftauchen, dann wird die Verwendung der Samen des variierten Teiles entschieden notwendig sein. Sie versteht sich von selbst, wenn man die Variante durch Vermehrung oder Pfropfung erhalten will, sie ist aber auch das richtige Verfahren,

¹⁾ Americ. Breed. Ass., II, S. 191.

²⁾ Internationaler landwirtschaftlicher Kongreß, Wien 1907, Referat 3, S. 6, Sektion IIIB.

wenn man die Erhaltung durch Samen versuchen will. Oft erhalten sich solche Variationen bei Fortpflanzung durch Samen überhaupt nicht, sind dann nur Modifikationen; in Fällen der Vererbung hat sich gelegentlich einheitliche Vererbung der Samen des variierten und des nicht variierten Teiles gezeigt, aber ebenso wurden auch Unterschiede in der Vererbung der Samen der beiderlei Teile beobachtet und die Möglichkeit einer solchen macht es notwendig die Samen des variierten Teiles für sich zu säen. So vererbten bei Bauer's Versuchen mit *Pelargonium Zonale* (Stammbuch Nr. 4) mit graugrünen weißrandigen Blättern grüne Zweige, die auftauchten, bei Selbstbefruchtung rein grün weiter, ebenso gelegentlich auftauchende rein weiße Zweige rein weiß weiter.¹⁾ Bei Versuchen von Correns mit einer *variegata*-Sippe von *Mirabilis Jalapa* gab bei erzwungener Selbstbefruchtung ein grüner Rückschlagast 3 gescheckte und 4 grüne Pflanzen, dagegen ein gescheckter, für diese Form also normaler Ast, 8 gescheckte Pflanzen. Bei einer *albomaculata*-Sippe derselben Art gab, je bei Selbstbefruchtung, der gescheckte Ast weiße, gescheckte und grüne Nachkommen, der grüne Ast nur grüne, der weiße Ast nur weiße, nicht lebensfähige. Dagegen war die Nachkommenschaft bei einer *striata*-Sippe derselben Art sowohl von dem Ast mit gestreiften Blüten als von jenem mit nicht gestreiften gleich. de Vries erhielt bei Knospenvariationen von *Antirrhinum majus striatum* von den durch Selbstbestäubung erhaltenen Samen der roten Blütentrauben eine ganz andere Nachkommenschaft als von jenen der gestreiften Trauben.²⁾

Bei landwirtschaftlichen Pflanzen liegen nur zwei Versuche vor. Johannsen beobachtete bei einer Knospenvariation von *Phaseolus vulgaris* volle Vererbung der Variation bei Selbstbefruchtung.³⁾ Dix teilt mit, daß eine aufgefundene Haferpflanze eine Rispe als allseitswendige Spreizrispe, die andere als Fahnenrispe ausbildete und die für sich gesäten Körner einer jeden Rispe die für dieselbe typische Form vererbten.⁴⁾ Häufig sind Knospenvariationen bei landwirtschaftlichen Pflanzen überhaupt nicht beobachtet worden. Es ist dieses wohl auf die Schwierigkeit zurückzuführen im Feldbestand solche Variationen aufzufinden und die Individuen als solche zu isolieren, eine Schwierigkeit, welche besonders bei Getreide erheblich ist. Bei *Dahlia*, *Pelargonium*, *Papaver*, *Chrysanthemum* konnte ich öfters Varianten der Blütenfarben in einer Pflanze finden, bei Getreide im Zuchtgarten nur einmal eine Knospenvariation beobachten.⁵⁾

¹⁾ Baur, Zeitschr. für induktive Abstammungs- u. Vererbungslehre, 1909, S. 338.

²⁾ Die Mutationstheorie, I, S. 502.

³⁾ Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, 1908, S. 1.

⁴⁾ Illustrierte landwirtschaftliche Zeitung, 1906, S. 838.

⁵⁾ Shirreff erwähnt, daß er begrannete und unbegrannete, behaarte und unbehaarte Ähren bei derselben Pflanze beobachtet hat. (S. 51 loco cit.).

Ebenso wie bei Beginn einer Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften kann auch im Verlauf derselben eine Knospenvariation bei einer morphologischen Eigenschaft eintreten und es wird auch dann eine getrennte Aussaat der Samen der verschiedenen Teile zweckentsprechend sein. Dagegen spricht nichts dafür bei gewöhnlicher spontaner Variation morphologischer Eigenschaft, wenn bei solchen überhaupt nach eingetretener Konstanz Auslese fortgesetzt wird, eine Auslese nach einzelnen Teilen getrennt vorzunehmen.

Bei Bastardierungen kann vegetative Spaltung in der ersten Generation aber auch in einer der weiteren auftreten. Zeigt sich solche, so wird es zunächst auch als zweckentsprechend betrachtet werden müssen, die Samen des variierten und nicht variierten Teiles für sich zu verwenden. Bisher fand ich allerdings bei vegetativen Spaltungen nach Bastardierungen, daß die Pflanze einheitlich vererbte. Wenn bei *Vicia villosa* eine vegetative Spaltung in einer Pflanze mit dominierender lila Blütenfarbe auftrat, so vererbte die Pflanze, so wie ein normales lila blühendes Spaltungsergebnis. Ebenso brachte bei Bastardierung von marmoriert- mit schwarzsamigen gelben Lupinen eine Pflanze der Nachkommenschaft, die 36 schwarzsamige und 11 marmoriertsamige Körner hatte, aus marmorierten und schwarzen Körnern spaltende Nachkommenschaften. Es war die Pflanze demnach als Ganzes eine solche mit dominierender Eigenschaft, die weiter spaltet, während man hätte erwarten können, daß die marmorierten Körner sich so verhalten, wie solche einer abgespalteten Pflanze mit regressiver Eigenschaft. Es stimmen diese Beobachtungen mit dem Ergebnis von de Vries bei einer sektorialen Spaltung bei *Antirrhinum majus striatum*. Rote und gestreifte Blüten einer Traube brachten gleiche Erbzahlen in der Nachkommenschaft.

Die Zweckmäßigkeit der Verwendung der Samen der einzelnen Teile bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Bastardierung wird nicht vorhanden sein, wenn die Nachkommenschaften sich einheitlich zeigen, in welchem Fall man oft überhaupt von weiterer Auslese absieht.

In der Gärtnerei wurde die Möglichkeit einer verschiedenen Vererbung der einzelnen Teile seit längerer Zeit beachtet. Es hängt dies wohl damit zusammen, daß gärtnerische Züchtung — wenigstens im Blumenbau — fast nur morphologische Eigenschaften berücksichtigt, demnach bei derselben leichter solche Beobachtungen gemacht werden konnten wie sie weiter oben für *Pelargonium*, *Mirabilis*, *Antirrhinum* mitgeteilt wurden. Es sagt Carrière daher schon 1865: „Qu'un végétal est une être très complexe, qui non seulement peut se multiplier, en tant qu'être tout en reproduisant ses caractères essentiels, mais que toute ses parties, susceptibles d'acquérir des propriétés

spéciales, peuvent aussi, étant multipliées à part, reproduire à leur tour les particularités qu'elles présentent.“¹⁾ Wie schon die oben erwähnten Versuche gezeigt haben und weitere Fälle, die Vilmorin bei *Chrysanthemum carinatum* und Formen von *Verbena* beobachtete, ist es vollkommen richtig, wenn Carrière sagt, daß die einzelnen Teile, wenn sie abweichend sind, die Abweichung übertragen können, aber diese Versuche, besonders jene von Vilmorin, haben auch gezeigt, daß dies nicht der Fall sein muß.

Massen- und Individualauslese.

Die Auslese von Früchten ist im gewöhnlichen Züchtungsbetrieb immer eine Massenauslese, bei Auslese von Fruchtständen wird zwar auch meist Massenauslese ausgeführt, möglich ist aber bei ihr auch schon Individualauslese. Erst wenn die Pflanzen Gegenstand der Auslese sind, findet man neben Massenauslese auch Individualauslese verbreiteter. Man ist im heutigen hochstehenden Züchtungsbetrieb so daran gewöhnt, eine derartige Individualauslese mit Beurteilung der einzelnen Nachkommenschaften der Elitepflanzen innerhalb einer Individualauslese durchzuführen, daß man oft nicht mehr daran denkt, daß dieselbe auch ohne eine solche möglich ist, ja daß sie in gewöhnlichen Wirtschaften fast allgemein noch so durchgeführt wird. In diesem Abschnitt soll daher in erster Linie nur der Individualauslese als solcher gedacht werden, die Bedeutung der Beurteilung der Nachkommenschaften wird erst im folgenden Abschnitt gewürdigt werden.

Eine Individualauslese ohne Beurteilung der einzelnen Nachkommenschaften besteht, wie wir gesehen haben, in der Auslese eines Individuums zu Beginn und entweder lediglich Weiterbau aller Nachkommen ohne Auslese oder aber Weiterführung der Auslese nur in der Nachkommenschaft dieses Individuums. Es ist dabei im letzt-erwähnten Fall zunächst gleichgültig, ob dabei in den folgenden Jahren je mehrere Individuen ausgelesen werden (gewöhnliche Individualauslese) oder nur je eines (reine strenge Individualauslese).

Ein Unterschied zwischen einer Auslese von Pflanzen bei derartiger Individualauslese und jener bei Massenauslese ist schon vorhanden aber wesentlich wird der Unterschied erst, wenn eine Nachkommenbeurteilung durchgeführt wird. Bei Individualauslese sind die als Auslesepflanzen benützten Vorfahren der einzelnen Auslese-

¹⁾ Carrière, Production et fixation des variétés dans les végétaux. Paris 1865.
 Progressus rei botanicae III. 19

pflanze bekannt, bei Massenauslese kennt man nur die Gesamtheit der als Auslesepflanzen vorangegangenen Individuen.

Individualauslesen ohne Fortsetzung der Auslese und ohne Nachkommenbeurteilung sind die bereits erwähnten Ausleseverfahren, welche Shirreff 1819 und Le Conteur 1823 anwendeten.

Bei Veredlungszüchtung finden wir Individualauslese ohne Nachkommenbeurteilung zuerst 1857 bei Hallet. Hallet las eine Ähre oder zwei besonders gute Ähren aus dem Feldbestand einer guten Sorte aus und säte die Körner derselben derart, daß jeder Pflanze ein bedeutender Wachsraum (1 Quadratfuß) zur Verfügung stand. Bei der Ernte verglich er die einzelnen Pflanzen miteinander und wählte die beste. Von der besten Ähre dieser Pflanze säte er nun neuerlich bei weitem Standraum und setzte dieses Verfahren fort.¹⁾ Die Hallet'sche Auslese geht demnach (da es heißt „ein bis zwei“ besonders gute Ähren, also offenbar im zweiten Fall zwei Ähren verschiedener Pflanzen) sicher erst vom zweiten Jahr ab von einer Pflanze aus und wählt aus der Nachkommenschaft dieser weiterhin jährlich nur je eine Pflanze oder richtiger eine Ähre einer Pflanze, sie ist demnach erst vom zweiten Jahr ab sicher eine Individualauslese. Die Möglichkeit zu einer Nachkommenbeurteilung fehlt — eventuell vom ersten Jahr abgesehen — bei dieser Auslesemethode, da kein Vergleich möglich ist, indem eben — eventuell vom ersten Jahr abgesehen — immer nur die Nachkommen einer Pflanze vorhanden sind.

Die erste ausdrückliche Anerkennung des Wertes der Individualauslese für die landwirtschaftliche Pflanzenzüchtung wurde von P. Ph. L. Lévêque de Vilmorin ausgesprochen, der seine Erfahrungen und die daraus gezogenen Schlüsse bereits 1856 in einer Sitzung der Société industr. d'Angers mitteilte, sie aber erst 1886 weiteren Kreisen zugänglich machte.²⁾ Es wird von Vilmorin darauf verwiesen, daß auch bei den Pflanzen die Fähigkeit der Übertragung von Eigenschaften individuell verschieden ist und daß diese Fähigkeit bei der ersten Auswahl erst in der nächsten Generation erkannt werden kann. Durch diese Erkenntnis sagt Vilmorin: „j'ai été amené, à me faire une règle absolue d'individualiser les choix: c'est à dire de ne jamais mêler à la récolte les graines de deux plantes portegraines destinées à servir à l'amélioration d'une race, si parfaites et si semblables même que ces plantes puissent paraître.“³⁾ Vilmorin arbeitete bei Veredlungszüchtung mit einem Fremdbefruchter der Rübe. Er wurde durch die verschiedenen

¹⁾ Hallet, On pedigree-wheat as a means of increasing crop. Journ. of the roy. agr. society of England, London 1862. — Hesse, Züchtung von Getreidearten in England. Landwirtsch. Jahrbücher, 1877.

²⁾ Notices.

³⁾ Notices, S. 46.

Folgen der verschiedenen geschlechtlichen Zusammentritte bald auf die Wichtigkeit der weiteren Getrennthaltung der Nachkommen gelenkt und seither wird Individualauslese bei Züchtung von Gartenformen in Verrières in ausgedehntester Weise angewendet.

Eine Nebeneinanderführung von Individualauslesen mit vollkommener geschlechtlicher Trennung der einzelnen derselben wird bei Rübenzüchtung erst in letzter Zeit ausgeübt und scheint zuerst in Deutschland bei Veredlungszüchtung von Futterrüben (Eckendorf; Mette-Quedlinburg) Eingang gefunden zu haben.

Eine weitere wissenschaftlich begründete Empfehlung der Individualauslese ging 1865 von dem Begründer der modernen Bastardforschung Mendel aus. Mendel arbeitete zwar vorwiegend mit einer selbstbefruchtenden Pflanze, der Erbse, aber da er — nur zu wissenschaftlichem Zwecke — Züchtung auf dem Wege der Bastardierung vornahm, so brachte ihm das Studium der Variabilität nach einer Bastardierung zur Erkennung des Isolationsprinzipes.

Seither hat dieses Isolationsprinzip oder dieser Vorgang der Individualauslese in der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen mehrfach Eingang gefunden, so bei Beseler-Anderbeck 1888, bei Nilsson in Svalöf und Hays in St. Antonypark von 1892 ab, bei v. Lochow von 1894, Hopkins in Amerika und Steiger in Deutschland von 1897, bei Mansholt in Holland und Nolč in Böhmen von 1898 ab, bei Krarup in Dänemark und bei mir von 1898 ab, bei Kraus und Kießling-Weihenstephan, Bayern, Martinet in der Schweiz von 1900 ab, bei Strube in Deutschland von 1901 ab, bei Helveg in Dänemark und in Loosdorf in Niederösterreich von 1904 ab.¹⁾ Die Anwendung erfolgte sowohl bei Veredlungszüchtung als auch bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung. Bei Züchtung auf dem Wege der Bastardierung hat sie — Svalöf ausgenommen — in die praktischen Betriebe, wie es scheint, noch keinen Eingang gefunden.

Es wurde Individualauslese dann auch bei wissenschaftlichen Untersuchungen angewendet, zuerst bei Mikroorganismen, dann aber auch bei höher organisierten Pflanzen. Bei diesen wurde sie zuerst von Johannsen bei seinen wichtigen Untersuchungen über Regression benutzt.²⁾ Es wurde der Wert der Individualauslese für wissen-

¹⁾ Clark auf der James island plantation in Columbia scheint selbständig bei Züchtung von Baumwolle auf das Prinzip der Individualauslese gekommen zu sein. Ich konnte nicht erfahren, wann er dasselbe zuerst anwendete. Webber berichtet schon in dem Yearb. of the Dep. of Agriculture für 1898 über Clark's Vorgehen. Auch für Wellmann, Haynes und Huston in Amerika nimmt Bolley selbständige Anwendung von Individualauslese bei Weizen in Anspruch.

²⁾ Johannsen, Über Erblichkeit.

schaftliche Untersuchungen von Vererbungsfragen auch auf dem letzten internationalen landwirtschaftlichen Kongreß in Wien ausdrücklich von v. Wettstein, Johannsen und v. Tschermak hervorgehoben¹⁾ und es wurde von Shull auf die besonderen Vorsichtsmaßregeln hingewiesen, welche bei wissenschaftlichen Untersuchungen bei Ausführung von Individualauslese zu beachten sind.²⁾ Von landwirtschaftlichen Autoren haben v. Rümker, Wohltmann und Martinet auf den Wert der Individualauslese verwiesen.³⁾

Bedenken gegen die Anwendung der Individualauslese bei Veredlungszüchtung landwirtschaftlicher Pflanzen hat Remy geäußert, indem er darauf aufmerksam machte, daß die Ergebnisse der Individualauslese also das, was wir jetzt reine Lebenstypen (Linien) oder bestimmt gerichtete geschlechtliche Typen-(Linien-)gemische nennen, nur unter bestimmten äußeren Verhältnissen beste Erfolge geben werden, bei abweichenden aber größere Mißerfolge bringen können als Populationen.⁴⁾ Ein ähnlicher Gedanke kommt bei Kießling zum Ausdruck, wenn er sagt: „Jedenfalls verdanken unsere Landsorten, die ein Gemisch verschiedener Formen sind, gerade diesem Umstand die Sicherheit ihrer bescheidenen Leistungen unter verschiedenen Verhältnissen, und in den verschiedensten Jahrgängen, indem immer eine oder einige Formen gerade dann günstigere Entwicklungsbedingungen finden, und daher besonders viel leisten, wenn andere weniger befriedigend sind, so daß die ihnen nachgerühmte Anspruchslosigkeit im letzten Grund auf einer Verschiedenartigkeit der Ansprüche der einzelnen die Population zusammensetzenden Formen und Linien beruht.“⁵⁾ Beide Ansichten finden ja ihre Stütze in den bekannten Erfahrungen mit Gemengsaaten verschiedener Sorten und verschiedener Arten, die fast durchweg höhere Erträge als Reinsaaten der gleichen Formen bringen. Diese Verhältnisse scheinen mir aber trotzdem nicht gegen Individualauslese bei der Züchtung selbst zu sprechen, diese ist zur sicheren Beurteilung der Formen während der Züchtung nötig; sie legen aber nahe bei der Vervielfältigung einander nahestehende Individualauslesen zusammenzugeben.

Ganz anderer Art sind jene Bedenken, welche bei Züchtung von ausgesprochen der Fremdbefruchtung unterworfenen Pflanzen

¹⁾ Kongreßreferate, Sektion III B.

²⁾ The plant world, 1908, Nr. 2.

³⁾ Deutsche landwirtschaftliche Presse, Nr. 29, bzw. Nr. 90. Annuaire agric. de la Suisse, 1907.

⁴⁾ Deutsche landwirtschaftliche Presse, 1907, S. 687.

⁵⁾ Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 1908, S. 747. — Hansen-Lyngby ist gegen Individualauslese, weil höchstmögliche Konstanz nicht in der Natur vorhanden ist, ihre Erzielung gegen die Ordnung in der Natur ist und sie in der Praxis doch nicht erhalten bleibt. (Holtmeier, Landw. Jahrb., 1907, S. 329.)

gegen die Anwendung der Individualauslese, ja selbst gegen Nebeneinanderführung mehrerer Individualauslesen ohne geschlechtliche Trennung, geltend gemacht werden. Die Fähigkeit der Individualauslese, einen bestimmten Typus zum Ausdruck zu bringen, wird allgemein anerkannt. Bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung wird, wenn keine volle Vererbung vorliegt, ebenso wie bei Auslese nach einer Bastardierung, doch immer wieder zu Individualauslese gegriffen und es sind von Züchtern keine Einwendungen gegen dieses Verfahren erhoben worden. Bei diesen Züchtungsarten genügt aber auch eine kurzdauernde Auslese, da es sich in praktisch brauchbaren Fällen eben nur um Ausscheidung von Bastardierungseinflüssen handelt. Dagegen wird bei Veredlungszüchtung bei Fremdbefruchtern die Auslese häufig ständig fortgesetzt, jedenfalls ist länger dauernde Fortsetzung derselben notwendig und es liegt daher bei geschlechtlicher Isolierung der einzelnen Individualauslesen die Möglichkeit vor, daß Schädigungen durch Inzucht in Erscheinung treten.

Man hat bei Mais gegen die angenommene Schädigung durch Inzucht einige Verfahren angewendet, obgleich eine solche Schädigung keineswegs bei dem angewendeten Ausleseverfahren der Nebeneinanderführung mehrerer geschlechtlich nicht voneinander getrennten Individualauslesen eintreten muß. Das wohl einfachste Verfahren, eine solche allfällige Gefahr zu vermeiden, wurde von Williams¹⁾ an der Versuchsstation des Staates Ohio angewendet, unabhängig davon auch von Bull an der Versuchsstation des Staates Minnesota.²⁾ Es besteht darin, daß nach mehrjähriger Fortsetzung des Ausleseverfahrens neue Ausgangspflanzen gewählt werden und Auslesepflanzen aus ihrer Nachkommenschaft, nach erfolgter Prüfung der letzteren, mit den vorhandenen Auslesepflanzen vereint werden. Webber bringt die Nachkommenschaften der einzelnen Auslesepflanzen nebeneinander in Reihen, entfahnt abwechselnd die eine oder die andere Längshälfte der Pflanzenreihen jeder Nachkommenschaft und nimmt nur von den entfahnten Pflanzen Samen, der somit überwiegend von einer Bestäubung durch Pflanzen der je nebenstehenden Nachkommenschaft herrührt.³⁾ Wesentlich umständlichere Verfahren sind von Dwight Funk und von Hopkins in Anwendung gebracht worden.⁴⁾ Einen ganz anderen Standpunkt nimmt in der Frage Shull auf Grund seiner Versuche ein. Er führt mehrere Individualauslesen mit strenger geschlechtlicher Trennung derselben voneinander durch, nimmt dann geschlechtliche Zusammentritte zwischen den isolierten Linien vor

¹⁾ Circular 16, Ohio Agr. Exp. Station 1907.

²⁾ 16. Ann. Rep. of the Agric. Exper. Station, Univers. of Minnesota 1908, S. 177.

³⁾ Bull. 251 Cornell Univers. Agr. Exp. Station, S. 311.

⁴⁾ Bull. 100, Univers. of Illinois 1905.

und ermittelt welcher dieser Zusammentritte den günstigsten Erfolg gibt. Die Linien, welche bei dem betreffenden Zusammentritt verwendet wurden, werden als Individualauslesen weitergeführt und Vertreter derselben für den Zweck der Gewinnung von Ausleseaatgut jährlich wieder geschlechtlich zusammengebracht. Zu denselben Schlußfolgerungen für die Durchführung der Maiszüchtung ist unabhängig von Shull auch East gelangt. Auch er befürwortet die Abtrennung von Typen durch geschlechtlich isolierte Individualauslesen, will aber die Vereinigung solcher nicht vom Züchter, sondern vom einzelnen Landwirt vorgenommen wissen.¹⁾

Auslese von Nachkommenschaften.

Bei Individualauslese ist, wenn die Auslese fortgesetzt wird, in jedem Jahr eine Anzahl von direkten Nachkommenschaften der Auslese- oder Elitepflanzen des Vorjahres vorhanden. Es ist, wie dies im letzten Abschnitt erwähnt worden ist, möglich, diese Nachkommenschaften in einer Individualauslese gemeinsam zu bauen und lediglich wieder beste Elitepflanzen auszuwählen. Man kann aber — und damit ist ein wichtiger Fortschritt gegeben — die einzelnen Nachkommenschaften beurteilen und die Elitepflanzen aus den besten Nachkommenschaften wählen. Dadurch ist man zu einer Auslese von Nachkommenschaften vorgeschritten, denn aus den schlechteren Nachkommenschaften werden eben keine Auslesepflanzen gewählt, diese Nachkommenschaften werden ausgeschieden. Wie sehr heute die Beurteilung der Nachkommenschaften geschätzt wird, geht daraus hervor, daß Nielsen-Tystofte selbst auf eine Beschreibung der Auslesepflanzen verzichtet und nur eine solche der Nachkommenschaften vornimmt und Römer die Ansicht ausdrückt, daß alle Untersuchungen der Auslesepflanzen, die nicht auch bei der Nachkommenschaft vorgenommen werden können, mehr oder weniger unnütze Arbeit sind, da die Vererbung nicht kontrolliert wird.²⁾

Die Durchführung der Beurteilung der Nachkommenschaften kann eine verschiedene sein. Am einfachsten ist sie bei morphologischen Merkmalen. In der Regel ist bei Individualauslese bei Berücksichtigung morphologischer Merkmale Konstanz vorhanden, wenn spontane Variationen morphologischer Eigenschaften ausgelesen werden, es ist dann

¹⁾ The american naturalist, 1909, S. 173.

²⁾ Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 1908, S. 531.

nur ein zufällig abweichendes Individuum auszulesen. Findet ein weiteres Variieren in der Individualauslese statt, so wie dies bei Zwischenrassen und nicht konstanten Bastardierungsprodukten der Fall ist, so wird die Nachkommenschaftsbeurteilung mit der Ermittlung der Erbzahl verbunden. Es wird ermittelt, wie viele Individuen prozentisch auf die verschiedenen Varianten entfallen. Diese Ermittlung hat bei Zwischenrassen für landwirtschaftliche Zwecke nicht sehr viel Wert, da landwirtschaftliche Formen, die nicht rein weitervererben, keine Verwendung finden. Im gärtnerischen Betriebe werden Zwischenrassen eher benützt und die Möglichkeit des Überganges zu Vollrassen ist ja überhaupt vorhanden. Bei Nachkommen von Bastardierungen ist die Bedeutung der Erbzahlen natürlich eine hervorragende, da die Kenntnis derselben es ermöglicht, die Art der Spaltungsverhältnisse zu erkennen und danach die Auslese vorzunehmen oder, wenn die Spaltungsart bekannt ist, die Auslese zu kontrollieren.

Zu einer schwierigen Arbeit wird die Nachkommenbeurteilung erst bei der Veredlungszüchtung. Da die individuelle kleine Variabilität, welche bei Veredlungszüchtung benutzt wird, immer weiter geht, muß entweder jedes Individuum der Nachkommenschaft für sich beurteilt werden oder man muß die Eigenschaften doch bei einer größeren Zahl von Individuen einer jeden Nachkommenschaft ermitteln, dann müssen Mittel für die einzelnen Nachkommenschaften und die bei der Auslese berücksichtigten Eigenschaften berechnet werden. Es wird bei Beurteilung der Nachkommenschaften dann weitere Auslese von Elitepflanzen nur aus den Nachkommenschaften mit höchsten Mitteln vorgenommen, es erfolgt demnach zuerst Nachkommenschafts- dann Pflanzenauslese. Neben diesem vollkommensten Weg der Nachkommenbeurteilung bei Veredlungszüchtung gibt es dann noch einen anderen. Dieser, im Eingang dieses Abschnittes erwähnte, besteht darin, daß man die Nachkommenschaften der Elitepflanzen zwar auch getrennt hält, aber nur Pflanzenauslese vornimmt. Dabei werden immerhin auch Nachkommenschaften ausgelesen, denn wenn eine Nachkommenschaft keine Pflanze enthält, welche die Eigenschaften in so hohem Maße besitzt um als Elitepflanze verwendet werden zu können, so wird eben dadurch schon die ganze Nachkommenschaft von der Weiterzüchtung ausgeschlossen. So scharf wie die erst besprochene Art der Auslese ist diese Art nicht. Es kann nämlich eine Nachkommenschaft, die hohes Mittel für die bei der Auslese berücksichtigten Eigenschaften aufweist, aber zufällig keine einzelne Pflanze mit sehr hohem Ausmaß für dieselben, bei der letzteren Art der Auslese ausgeschieden werden, während die erste Art sie erhält. Es scheint mir richtiger die Nachkommenschaftsauslese über die Pflanzenauslese zu stellen, demnach die Auslese zuerst nach Nachkommen-

schaften, bzw. den Mitteln derselben für die Eigenschaften der Auslese vorzunehmen und dann erst nach Pflanzen.

Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften bietet zu Beginn zu einer Art von Nachkommenschaftsbeurteilung wohl immer Gelegenheit. Wenn eine begrannnte oder rotkörnige Form von Weizen in einer nicht begrannnten oder gelbkörnigen Weizensorte spontan auftaucht, ausgelesen und vervielfältigt wird, so ist es natürlich, daß ein neuerliches Auftauchen von nicht begrannnten oder weißkörnigen Pflanzen oder von Pflanzen mit anderer abweichender äußerer Eigenschaft auffällt und man daran gehen wird, diese Pflanzen auszuschneiden. Derartige Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften wird, wie oben schon angedeutet, zwar als Individualauslese durchgeführt, aber man setzt nach erreichter Konstanz, die in der Regel gleich vorhanden ist, meist die Auslese nicht fort. Bei Züchtung durch Bastardierung konnte man früher auch nicht von einer eigentlichen Nachkommenbeurteilung sprechen, da sie meist als Pflanzenauslese bei Massenauslese durchgeführt wurde. Erst seit der Wiederentdeckung der Mendel'schen Regeln wird die Nachkommenbeurteilung nach dem Vorhandensein der einen oder anderen Eigenschaft der einzelnen Paare durchgeführt und erleichtert die Auslese erheblich.

Als ein entschiedener Fortschritt muß die Durchführung der Auslese mit Nachkommenschaftsbeurteilung für die Veredelungszüchtung bezeichnet werden. Die Nachkommenbeurteilung dieser, demnach die Beurteilung bei Eigenschaften, welche der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind, verlangt möglichst gleichmäßige Verhältnisse für die Nachkommenschaften aller Auslesepflanzen. Die Pflanzen werden daher meist im sogenannten Zuchtgarten und bei gleichmäßiger Entfernung voneinander herangezogen. Der Zuchtgarten soll dabei nicht gartenmäßige Verhältnisse bieten, sondern möglichst feldmäßige. Auch die Entfernung der Pflanzen soll daher möglichst jener nahe kommen, welche die Pflanzen auf dem Felde erhalten aber doch so groß sein, daß die Individuen sicher einzeln geerntet werden können. Um möglichste Gleichmäßigkeit zu erzielen, werden die gegen die Wege zu stehenden Pflanzenreihen, die sogenannten Randreihen auch nicht von Auslesepflanzen, sondern von anderen Pflanzen, oft solchen einer anderen Art, gebildet, da die Randpflanzen immer günstigere Standortverhältnisse, nicht nur mehr Bodenraum, sondern auch günstigere Belichtung und Lüftung zur Verfügung haben. Leider wird nun die Gleichmäßigkeit des Wachsraumes dadurch gestört, daß einzelne Körner vor der Keimung zugrunde gehen, einzelne Pflanzen absterben. Für die Beurteilung der Nachkommenschaften ist es auch wichtig, die Größe des Verlustes an Pflanzen festzustellen, da jene Nachkommenschaften, welche eine geringere Zahl von Pflanzen ver-

loren haben, bei sonst annähernd gleichem Verhalten die wertvolleren sind. Um den Vergleich zu erleichtern, nimmt man gerne die gleiche Zahl von Pflanzen in jeder Nachkommenschaft und geht dabei von der Pflanze mit der kleinsten Zahl Samen aus. Die Anordnung der einzelnen Nachkommenschaften kann in Reihen oder Vierecken erfolgen.

Die Notwendigkeit einer gesonderten Beurteilung der Nachkommenschaften der einzelnen Auslesepflanzen hat nach mehrfachen Annahmen L. Lévêque de Vilmorin zuerst erkannt. Costantin¹⁾ führt dafür eine Stelle aus den gesammelten Arbeiten von Louis Lévêque, de Vilmorin und P. Philipp André Lévêque de Vilmorin²⁾ an. Diese Stelle lautet: „chaque variation appréciable à nos sens peut-être amenée à l'état de race constante, se reproduisant par graine, au moyen d'une série plus ou moins longue de semis méthodiquement suivis.“ Der Äußerung als solcher kann nicht uneingeschränkt zugestimmt werden, es sei nur kurz erwähnt, daß bei Zwischenrassen ein solcher Erfolg fraglich ist, ebenso bei gewissen Verstärkungen in der Samenfarbe, sowie bei Bastardierungsprodukten, wenn sich die Eigenschaften nach dem *Zea*-Typus *Correns'* verhalten und Mittelbildung vorliegt. Die Äußerung ist aber auch nicht als Beweis dafür zu verwenden, daß Vilmorin die Bedeutung der Nachkommenbeurteilung erkannt hat, sondern nur dafür, daß er für Fortsetzung der Auslese eintrat. Dafür, daß er die Wichtigkeit der Nachkommenbeurteilung erkannt hat, kann aber eine andere Bemerkung verwendet werden, welche Vilmorin allerdings mehr nebenbei machte und die sich in der genannten Broschüre in einer Fußnote S. 28 findet: „La puissance de transmission des caractères étant le point essentiel à déterminer, on conçoit combien il est nécessaire de récolter séparément les graines de chaque plante; cela m'a amené à posséder un état civil et une généalogie parfaitement correcte de toutes mes plantes depuis le commencement de l'expérience.“ Aus den Ausführungen im Text geht hervor, daß Vilmorin mit diesem Satz nicht nur eine fortgesetzte Auslese im Auge hatte, bei welcher die Auslesepflanzen aus der Nachkommenschaft bekannter Auslesepflanzen abstammen, sondern daß er tatsächlich bei seiner Zuckerrübenzüchtung eine Beurteilung der Nachkommenschaften vornahm, den mittleren Zucker Gehalt derselben ermittelte. Dies wird noch deutlicher durch eine andere Äußerung, die 1856 gemacht wurde und bereits zitiert ist (S. 292). Die erste Anwendung dieser Erkenntnis wurde von Vilmorin 1837 bei Züchtung einer Zierpflanze, der Züchtung gefüllt blühender giroflés quarantaine gemacht, weitere dann bei Züchtung vieler anderer

¹⁾ Costantin, *Le transformisme appliqué à l'agriculture*, 1906, S. 283.

²⁾ *Notices*, S. 16.

Gartenpflanzen. Auf die Züchtung von landwirtschaftlichen Pflanzen außer der Zuckerrübe scheint die Erkenntnis Vilmorin's bei ihm selbst und seinem Hause keinen Einfluß gehabt zu haben, denn Vanha stellte, wie erwähnt, fest, daß bei Vilmorin bei Getreide nur Körner- und Ährenauslese betrieben wird und über andere landwirtschaftliche Züchtungen wird nichts berichtet.

Eine Nachkommenbeurteilung wurde auch von Beseler-Weende und zwar zuerst bei Züchtung durch Formentrennung von Weizen durchgeführt. Dann bei dem noch zu besprechenden deutschen Ausleseverfahren der Veredlungszüchtung, das schon einer weiteren Stufe der Entwicklung der Ausleseverfahren entspricht, von v. Lochow in Petkus seit 1894, von Steiger-Leutewitz und Hopkins in Nordamerika seit 1897, von Kraus und Kießling-Weihenstephan und Strube-Schlanstedt seit 1901, von Pammer-Wien bei Roggen seit 1901. Auch Martinet kommt zu der Schätzung der Beurteilung der Nachkommenschaften: „Voilà une preuve de plus que les plantes-sélection ne sauraient être appréciées définitivement que par leur descendance; les qualités observées chez la plante d'élite accordent des probabilités seulement.“¹⁾

In Amerika finden wir die erste Erwähnung einer Durchführung der Nachkommenschaftsbeurteilung bei den Arbeiten Hays' an der Minnesota Agricultural Experiment Station. Hays begann 1892 Weizen zu züchten, damals war aber die Auslese eine Pflanzenauslese, welche fortgesetzt wurde, indem in jeder Individualauslese jährlich die beste Pflanze ausgelesen wurde.²⁾ Von 1898 ab wurde der Vorgang geändert und jetzt wurde eine Nachkommenbeurteilung eingeführt.³⁾ Es wurden im 1. Jahr von jenen Formen, welche sich in vergleichenden Versuchen als die besten erwiesen hatten, im Zuchtgarten je viele, etwa 1200 ausgesuchte Samen ausgesät und die besten Pflanzen ausgesucht. Im 2. Jahr wurden von jeder der ausgesuchten besten Pflanze 100 Körner gesät „centgener“. Es wurde in den Nachkommenschaften, die sich am besten bewährten: gute Vererbung auf die Nachkommenschaft, gleich „centgenerpower“ zeigten, weiter für den Zuchtgarten für neue Hunderter Nachkommenschaften ausgelesen, während der Rest der besten Nachkommenschaften, nach Ausscheidung dürrtiger Pflanzen, zur Vervielfältigung gegeben wurde. Das Verfahren erfuhr dann weiter eine volle Durchbildung, welche von Hays selbst in einer späteren Veröffentlichung geschildert wird.⁴⁾ Schematisch skizziert war das Verfahren dann das folgende:

¹⁾ S. 25 des Abdrucks aus *Annuaire agr. de la Suisse* 1907.

²⁾ University of Minnesota, Agr. Exper. Stat. Bulletin 62, 1899, S. 422.

³⁾ Loco cit. S. 437–451.

⁴⁾ U. S. Dep. of Agr. Division of vegetable physiology and pathology, 1901, Bulletin Nr. 29, S. 44–50.

1. Jahr: Aussaat vieler Körner einer guten Sorte (Winterweizen, 5:5, Sommerweizen 4:4 engl. Zoll, je 3 Körner pro Pflanzstelle, Ver-
einzelung auf 1 Pflanze pro Pflanzstelle), Ernte jener Pflanzen, welche
bei Durchsicht der Beete als die besten erscheinen.

2. Jahr: Aussaat der Samen der besten Pflanzen des Vorjahres,
die Nachkommenschaft je einer Pflanze, meist 100 Pflanzen (centgener),
für sich gehalten.

3. Jahr: Je Aussaat der Samen der besten Pflanzen der besten
Nachkommenschaft.

4. Jahr: Je Aussaat der Samen der besten Pflanzen der besten
Nachkommenschaft.

5. Jahr: Aussaat der Samen jener ursprünglichen Pflanze jener
Nachkommenschaftenfolge, welche im 3jährigen Durchschnitt das beste
Ergebnis geliefert hat.

6., 7. und 8. Jahr: Feldprüfung.

Von den Stämmen, Individualauslesen (Hays nennt sie strains
oder varieties), welche im Durchschnitt der 3 Jahre der Feldprüfung
den besten Erfolg zeigten, wird Saatgut zu Versuchen im Lande ab-
gegeben. Das Verfahren kann sowohl Veredlungszüchtung als
Züchtung durch Formentrennung sein, je nachdem die Ausgangssorte
morphologisch — oder wie dieses von Züchtern genannt wird botanisch
— rein war oder nicht. Das Verfahren wurde in den Vereinigten
Staaten auch an anderen landwirtschaftlichen Versuchsstationen an-
genommen, so beispielsweise an jener der Universität Wiskonsin, in
deren Arbeiten es Moore und Stone beschreiben.¹⁾

Die Mehrzahl der Getreidezüchter der Vereinigten Staaten bevor-
zugt das sogenannte centgener-Verfahren, wie es dem eben erwähnten
Auslesevorgang entspricht. Einige neigen sich dem head row-, etwa
gleich Fruchtstand Reihen-Verfahren zu. Bei dem centgener-Ver-
fahren wird zu Beginn der Auslese eine Anzahl guter Samen einer
guten Sorte genommen. Diese Samen werden im 1. Jahr, wie oben
erwähnt, so gesät, daß die Pflanzen schließlich in gleichen Abständen
voneinander stehen und aus diesen Pflanzen auf den foundation beds
werden die Pflanzen gewählt, von denen jede den Ausgang einer
Individualauslese abgibt (Fig. 5). Das head row-Verfahren weist schon
einen anderen Ausgang auf. Statt von Samen wird von guten auf
dem Feld gesammelten Fruchtständen ausgegangen und die Körner
eines jeden dieser Fruchtstände werden in eine Reihe für sich gelegt.
Jede solche Reihe entspricht einem centgener des centgener Verfahrens
und wird head row genannt (Fig. 6). Ein anderer Unterschied besteht
in der verschiedenartigen Anordnung der Pflanzen der Nachkommen-
schaften in Vierecken oder in Reihen. Weiter unterscheidet sich

¹⁾ 21. Ann. Rep. University of Wiskonsin, 1904, S. 309.

Fig. 5. Schema des Beginnes einer Auslese nach dem centgener-Verfahren. Zuchtgarten.

1. Jahr founda- tion beds	• • • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • •	• • • • • • •
2. Jahr cent- geners	von 1	von 2	von 3	von 4	von 5	von 6	von 7

In jeder Nachkommenschaft, jedem „centgener“, gleich viel Samen einer der im ersten Jahr ausgelesenen Pflanzen, z. B. 1—7. Jede Nachkommenschaft besteht wie ausgeführt aus gleich vielen Individuen, die Skizze zeigt uns je 9.

Fig. 6. Schema des Beginnes einer Auslese nach dem head row-Verfahren. Zuchtgarten.

	 1	 2	 3	 4	 5	 6	 = einem auf dem Felde aus- gelesenen guten Fruchtstand.
1. Jahr	von 1	von 2	von 3	von 4	von 5	von 6	

In jeder Nachkommenschaft jeder (Fruchtstandreihe) head row gleich viel Samen eines der im ersten Jahr ausgelesenen Fruchtstände.

dieser Vorgang vom centgener-Verfahren dadurch, daß die Ausscheidung zur Vervielfältigung schon nach dem 2. Jahr erfolgt und daß jedes Jahr neue Fruchtstände vom Feld entnommen werden und sofort ihre Nachkommenschaft geprüft wird. Zur Abgabe gelangen bei dem centgener-Verfahren in der letzterwähnten Ausbildungsform die Vermehrungen, welche nach vollendeter Prüfung vorgenommen werden. Bei dem head row-Verfahren werden alljährlich die Samen der nächstbesten Nachkommenschaften zur Vervielfältigung für den Verkauf abgestoßen. Der Hauptgegensatz zwischen centgener- und head row-

Verfahren besteht darin, daß man bei dem ersteren durch die einige Jahre hindurch verfolgte Auslese eine Verbesserung innerhalb der Individualauslese zu erzielen hofft, bei dem letzteren immer wieder auf die Entdeckung neuer Ausgangsindividuen ausgeht. Professor Ten Eyck von der landwirtschaftlichen Versuchsstation des Staates Kansas, der für den head row plan eintritt, gibt als Vorzug desselben an, daß man von einer größeren Zahl von Individuen ausgehen kann und dies, sowie die weiter jährlich vorgenommene Feldauslese die Möglichkeit erhöht, hervorragende Individuen zu entdecken, daß das Verfahren einfacher ist, weil die Ausscheidung vor Abspaltung vieler Nachkommenschaften innerhalb jeder Individualauslese schon nach dem 1. Jahre erfolgt.¹⁾ Auch das wird als Vorzug des Verfahrens angeführt, daß man mit Auslese von Ausgangspflanzen von Individualauslesen ein Jahr früher beginnen kann. Bei dem centgener-Plan stehen im 1. Jahr Einzelpflanzen nebeneinander, aus welchen ausgelesen wird, bei dem head row-Verfahren stehen im 1. Jahr aber schon Nachkommenschaften, jene der ausgelesenen Fruchtstände, nebeneinander. Es scheint mir wohl nichts dem im Wege zu stehen, die Vorzüge des head row-Verfahrens mit jenem des centgener-Verfahrens zu vereinen. Es würde dies wohl dadurch möglich sein, daß man beim head row-Verfahren statt Fruchtständen ganze Pflanzen als Gegenstand der Auslese verwendet und daß man die Auslese länger fortsetzt. Bei Fremdbefruchtern wird die Dauer der Auslese bei keinem der beiden Verfahren genügen. Tatsächlich finden wir auch bei Mais den head row-Vorgang in Amerika an der Versuchsstation des Staates Illinois als ear row-Vorgang bei einem Verfahren mit Nachkommenbeurteilung und ständiger Auslese angewendet.

Bei Fremdbefruchtung kommt bei einer Fortsetzung der Auslese der Erfolg einer Nachkommenbeurteilung schließlich auch zum Ausdruck, wenn die Nachkommenschaften nebeneinander stehen. Selbstverständlich werden aber die Nachkommenschaften sich dabei gegenseitig beeinflussen und es werden daher auch Nachkommenschaften, die bei der Prüfung derselben im Herbst oder Winter des Jahres als minderwertiger erkannt werden, im vorangegangenen Sommer schon ihren geschlechtlichen Einfluß auf die übrigen Nachkommenschaften ausgeübt haben. Man hat nun versucht, diesem Umstand zu begegnen und eine Art Vorprüfung von Nachkommenschaften vorgenommen. Bei Zuckerrübenzüchtung wurde von Vilmorin in Verrières in Frankreich und von Dieckmann in Heimbürg im Harz in Deutschland je ein Verfahren eingeführt, das darin besteht, daß von jeder

¹⁾ Am. Breed. Ass. IV, S. 53. — „This method does not aim to train the grain or improve it by a long process of breeding and selection; rather it aims to discover the great individuals, which at once, merely by separation, may become the foundation stock of a pure and improved strain or variety.“

der beisammen stehenden Mutterrüben zunächst nur die Hälfte des Samens gesät wird. Dadurch soll der geschlechtliche Einfluß der Mutterrüben (Elitepflanzen) aufeinander ermittelt werden und dem erwähnten Umstand Rechnung getragen werden. Bei Rübenzüchtung wird aber heute geschlechtliche Isolierung der Elitepflanzen, der Mutterrüben vorgezogen, da die Rübe gegen Befruchtung innerhalb der Pflanzen (Nachbarbefruchtung) nicht empfindlich ist. Ein Versuch bei Mais den geschlechtlichen Einfluß der Nachkommenschaften von Elitepflanzen vor Prüfung der Nachkommenschaften auszuschließen, wurde kürzlich von Williams in Ohio gemacht.¹⁾ Es wird bei diesem Vorgang jährlich nur die Hälfte der Samen der einzelnen Elitepflanzen vergleichend gesät. Von jenen Pflanzen, deren halbe Nachkommenschaft sich bei diesem Vergleich bewährt hat, wird dann im nächsten Jahr die andere Hälfte im Zuchtgarten für weitere Auslese gesät.

Auslese von Typen (Linien), Typen-(Linien-)gemischen und Nachkommenschaften.

Wenn man nicht nur eine Individualauslese mit Nachkommenbeurteilung durchführt, so wie das im letzten Abschnitt besprochen worden ist, sondern deren mehrere, so hat man die Möglichkeit nicht nur innerhalb einer Individualauslese zwischen Nachkommenschaften der einzelnen Elitepflanzen, sondern zwischen Typen (Linien) oder bestimmten geschlechtlichen Typen-(Linien-)mischungen auszulesen. Eine Auslese zwischen Typen (Linien) wird bei Selbstbefruchtern möglich (Fig. 4), eine solche zwischen bestimmten geschlechtlichen Typen-(Linien-)mischungen dann, wenn bei Fremdbefruchtern die einzelnen Individualauslesen voneinander geschlechtlich getrennt geführt werden. Von großer Wichtigkeit für den Erfolg der Züchtung ist es, zu Beginn möglichst viele Individuen auszuwählen, mit möglichst viel Individualauslesen zu beginnen. Die Erkenntnis dieses Umstandes war bereits bei dem Obstzüchter van Mons vorhanden und wenn Hansen bei seiner Züchtung widerstandsfähiger Obstsorten im 2. Jahr 27 000, im Zeitpunkt des Berichts ¹/₄ Million Individuen untersucht hatte, so veranlaßte ihn dazu die gleiche Erkenntnis.²⁾

Die Möglichkeit einer Getrennthaltung der Individualauslesen ist bei Arten, welche zwar Fremdbefruchtung zulassen, bei Ausschluß

¹⁾ Ohio Agr. Exper. St. 1907, Circular 66.

²⁾ Bull. 88 South Dakota Agr. Coll., 1904.

derselben aber doch Samen bringen, einfach gegeben. Es genügen einfache Einschlußmittel, die entweder dicht sein müssen, wenn bei Blüten der betreffenden Art Pollen durch den Wind übertragen wird oder aber in Form von Draht- oder Fadengeweben angewendet werden, wenn es sich nur um Ausschließung von Insekten handelt. Bei Versuchen, die nicht streng wissenschaftlich durchzuführen sind, genügt auch räumliche Isolierung. Derartige Absonderung der gezüchteten Pflanzen oder Gruppen solcher von anderen Pflanzen gleicher Art wird im Zuchtbetrieb oft durchgeführt.

Ob nun eine Art bei Einschließung Samen bringt oder nicht, mußte für viele Arten besonders nachgewiesen werden.¹⁾ Die bloße Kenntnis der Bestäubungseinrichtung genügt nicht, es sei in dieser Hinsicht nur als Beispiel darauf verwiesen, daß diese bei Wicke auf Fremdbefruchtung hinweist und diese Art dennoch bei Einschluß gute Samenbildung zeigt und bei Versuchen mit spontanen Variationen morphologischer Eigenschaften im freien Feld keinen Einfluß einer Fremdbestäubung zeigte.²⁾

Bei Pflanzen, welche ausschließlich auf Fremdbestäubung durch Insekten angewiesen sind, wurde von mir zuerst ein Verfahren eingeführt, das gestattet, auch an einer einzelnen eingeschlossenen Pflanze, soweit dieselbe nicht selbststeril ist, Samen zu erhalten, demnach auch bei solchen Pflanzen Individualauslese durchzuführen. Das Verfahren gibt weiter auch bei Selbststerilität die Möglichkeit einer gegenseitigen Befruchtung zwischen bestimmten zusammen eingeschlossenen Pflanzen.³⁾

Es besteht darin, daß Insekten, welche die Blüten der betreffenden Pflanze wirksam besuchen, zu den isolierten Pflanzen gebracht werden. Dabei müssen die Pflanzen unter geräumigen Gazekästen stehen; kleine Säcke, in welchen die Bewegungsfreiheit der Insekten gehemmt ist, führen nicht zum Ziel, wie Martinet, der das Verfahren zuerst mit solchen versuchte, fand.⁴⁾ Die Insekten müssen auch auf Pflanzenbeständen anderer von ihnen auch besuchter Arten gefangen werden, damit sie beim Einsetzen „rein“ sind und sie müssen nach 1 $\frac{1}{2}$ —2 Tagen gewechselt werden. Das gleiche Verfahren läßt sich dann bei Nachkommenschaften von Elitepflanzen anwenden.

¹⁾ Fruwirth, Beiträge zu den Grundlagen der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Naturw. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. Fruwirth, Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Bd. II, III und IV.

²⁾ Fruwirth, Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 1906.

³⁾ Fruwirth, Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Bd. III S. 106 und Amer. Breed. Ass., Vol. IV S. 294.

⁴⁾ Annuaire agric. de la Suisse, 1901, S. 13.

Ein anderes Verfahren, das bei solchen Pflanzen, welche ausschließlich auf Fremdbestäubung angewiesen sind, gestattet von einem Individuum Samen bei Ausschluß fremder Bestäubung zu erhalten, besteht in der Vermehrung des Individuums durch Stecklinge. Die aus den Stecklingen eines Individuums erwachsenden Pflanzen treten dann geschlechtlich zusammen. Bei Klee wurde es zuerst von Galloway vom Bureau of Plant Industry vom Departement of Agriculture vorgeschlagen. Es wurde von Westgate und Oliver¹⁾ ausgearbeitet und von 1906 ab bei Züchtung von Luzerne von Roberts und Freemann an der Kansas Agricultural Experiment Station angewendet.²⁾ Diese Station arbeitete bei Luzerne auch mit künstlicher Bestäubung eingeschlossener Pflanzen. Bei Luzerne macht eine solche wenig Mühe, da das Schiffchen leicht zum Emporschnellen zu bringen ist und dann wirksame Selbstbestäubung erfolgt, während bei anderen Kleearten eine künstliche Übertragung von Pollen durch den Menschen sehr zeitraubend und umständlich ist.

Bei Gras wurde zu gleichem Zweck eine Vermehrung einer einzelnen Pflanze zu Zuchtzwecken zuerst 1906 von mir in Hohenheim versucht. Die Bewurzelung der Grastriebe erfolgt sehr leicht, eine hoch behäufelte Graspflanze kann noch vor Abtrennung der Triebe dazu gebracht werden, von diesen Wurzeln zu entsenden. Wie leicht bei Gramineen ein solches Verfahren durchzuführen ist, zeigen schon die Versuche Miller's, der 1765 durch wiederholte Teilung einer Winterweizenpflanze von einem im Herbst gesäten Stock 500 im folgenden Jahr vorhandene Pflanzen erhielt, die zusammen 21109 Körner brachten.³⁾ Das, was bei Gras für die einzelne Art noch zu prüfen übrig bleibt, ist, ob die Selbststerilität nicht so weit ausgebildet ist, daß es auch bei gegenseitiger Bestäubung der aus Stecklingen von einem Individuum erwachsenen Pflanzen nicht zu einem befriedigenden Fruchtsatz kommt. Eingeschlossene einzelne Pflanzen mehrjähriger Gräser liefern keinen Ansatz oder nur einen ganz unbedeutenden.⁴⁾

Ausleseverfahren, die einerseits Auslese von Linien und Linien gemischen und andererseits, innerhalb derselben, solche von direkten Nachkommenschaften einzelner Elitepflanzen gestatten, wurden mit zeitlich beschränkter Auslese von Nachkommenschaften zuerst von Hays, mit fortgesetzter Auslese solcher zuerst von Beseler, v. Lochow, Hopkins eingeführt und werden vorwiegend im nächsten

¹⁾ Westgate und Oliver, Bull. 1902, part IV. Bureau of Plant Industry U. S. Dep. of Agr., 1907.

²⁾ Roberts und Freemann, Kansas Agr. Exper. St., Bulletin 151, 1908.

³⁾ London Philos. Transaction, Bd. 58, S. 203. Nach Shirreff, Hesse.

⁴⁾ Eben in Gang befindliche eigene Versuche zeigen, daß bei *Festuca pratensis* Pflanzen, die durch Vermehrung von einem Individuum gewonnen wurden, miteinander eingeschlossen, Samen bilden.

Abschnitt besprochen, da ihre Besprechung mit jener der Frage nach ein- oder mehrmaliger Auslese innig zusammenhängt.

Wie wir in diesem und dem vorhergegangenen Abschnitt gesehen haben, stehen bei Fremdbefruchtern bei Fortsetzung der Auslese mit Nachkommenschaftsprüfung zwei Verfahren einander gegenüber. Bei dem einen bleiben alle Nachkommenschaften innerhalb einer Individualauslese oder bei Nebeneinanderführung mehrerer Individualauslesen alle Nachkommenschaften aller Individualauslesen geschlechtlich ungetrennt nebeneinander. Es wird demnach im 1. wie im 2. Fall nur eine Individualauslese durchgeführt, da auch bei ursprünglichem Ausgang von mehreren einzelnen Pflanzen spätere geschlechtliche Zusammentritte die Individualauslesen vereinen. Eine weitere Ausgestaltung erfährt dieses Verfahren durch die erwähnte Vorprüfung von Nachkommenschaften.

Bei dem zweiten Verfahren wird jede Individualauslese und jede Nachkommenschaft geschlechtlich von den übrigen getrennt gehalten. Es ist bei der Schwierigkeit der Durchführung dieses Verfahrens nur möglich mit verhältnismäßig wenig Pflanzen zu arbeiten. Es wird dieses Verfahren für gewöhnliche Veredlungszüchtung kaum zu empfehlen sein, es ist aber sicher, daß es bei Auslese bestimmter Eigenschaftskombinationen nach Bastardierung rascher weiter bringt als das erste und möglich, daß es bei Fremdbefruchtung auch bei Züchtung auf Kornfarbe und Züchtung nicht konstanter spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften mehr fördert, als das erste.

Vergleichende Versuche mit beiden Verfahren liegen noch nicht vor. Der Vergleich der v. Rümker'schen Züchtung auf Kornfarbe bei Roggen mit der von mir durchgeführten wird einen solchen ermöglichen, da v. Rümker die Nachkommenschaften je einer Individualauslese nebeneinander hielt¹⁾, ich dagegen jede Nachkommenschaft einer Elitepflanze für sich eingeschlossen abblühen ließ. Sehr rasch wird Konstanz — dies kann ich jetzt bereits überblicken — auch bei Einschluß nicht erreicht. Erklärlich ist das ja, denn die Ausgangspflanze einer fremdbefruchtenden Form birgt ja in jedem Fall die Folgen verschiedener geschlechtlicher Zusammentritte in sich, die erst allmählich gesichtet werden müssen. Neuerliche geschlechtliche Störungen sind allerdings bei isolierter Weiterführung jeder Nachkommenschaft ausgeschlossen, solche sind aber auch bei ungehinderter geschlechtlicher Mischung in einer Zucht vielleicht nicht sehr erheblich, da eben nur bestimmte ausgewählte Individuen und Nachkommenschaften zusammentreten und vielleicht selbst günstig, da gleichartig ausgewählte Individuen aufeinander wirken.

¹⁾ Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau, 1909.

Einmalige oder fortgesetzte Auslese.

Einmalige oder fortgesetzte Auslese in den Züchtungsbetrieben.

Die Idee, daß bei Züchtung die Auslese weitergeführt werden müsse, beherrscht die Mehrzahl der Züchter vor Darwin und auch nach Darwin bis in das letzte Jahrzehnt des letzten Jahrhunderts. Den Gedanken, daß ständige Auslese notwendig ist, finden wir bereits bei den Römern¹⁾, er tritt uns etwas abgeschwächt bei Vilmorin entgegen²⁾ und Mendel fordert, wenn auch nicht ständige, so doch wiederholte Auslese. Von Züchtern vor Darwin haben Shirreff und Le Couteur nur einmalige Auslese vorgenommen, ohne in weitere Begründung einzugehen. Allerdings arbeiteten diese beiden Züchter mit Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung und die zugrunde gelegten Pflanzen waren Selbstbefruchter. Ausgesprochener Vertreter der Ständigkeit der Auslese war, obwohl er auch mit Selbstbefruchtern arbeitete, Hallet. Wenn Darwin von Auslese bei Züchtern spricht, wird immer die Ständigkeit der Auslese betont. Sie war zu seiner Zeit und mehrere Jahrzehnte nachher das Herrschende. Hinweise darauf finden wir bei Darwin mehrfach. So beispielsweise in den beiden folgenden Äußerungen: „Es besteht unter den Züchtern ein allgemeiner Glaube, daß Charaktere aller Sorten durch lange dauernde Vererbung fixiert werden.“³⁾ „Damit methodische Zuchtwahl erfolgreich wird, sind die strengste Aufmerksamkeit und Unterscheidung in Verbindung mit unermüdlicher Geduld absolut notwendig.“⁴⁾

Von den deutschen Züchtern züchtete nach dem Erscheinen von Darwin's Werk die Mehrzahl mit ständiger Fortsetzung der Auslese, ebenso treffen wir solche zumeist in Österreich, Frankreich und Italien an. Einzelne Ausnahmen sind allerdings bemerkbar. Das in Italien, wenn auch nur für gewöhnliche Wirtschaften, empfohlene Ausleseverfahren (S. 279) kennt nur 3jährige Auslese, Vilmorin spricht nicht von dauernder Auslese aber doch von „une série plus ou moins longue de semis méthodiquement suivis“.⁵⁾

Als entschiedener Verfechter einmaliger Auslese gelten meist die Svalöfer Forscher und viele Veröffentlichungen, die von anderer Seite über Svalöf erfolgten, betonen zwei Punkte: die Vornahme der Auslese

¹⁾ S. 272.

²⁾ S. 299.

³⁾ Das Variieren, Stuttgart 1878, II, S. 248.

⁴⁾ Das Variieren, Stuttgart 1878, II, S. 258.

⁵⁾ Notices, S. 16.

nach botanischen — also morphologischen — Merkmalen und die nur einmalige Vornahme der Auslese.

Wenn ich es im folgenden unternehme, mich auf Grund der vorhandenen Literatur — mein Besuch in Svalöf liegt weiter zurück — über die in Svalöf verwendeten Ausleseverfahren zu verbreiten, so verkenne ich nicht, daß die Angaben sich zum Teil widersprechen und daß sie nicht immer den Wandlungen, die in den Arbeitsmethoden in Svalöf stattfanden, folgten. So wie bei dem Übergang der Leitung von Neergaard auf Hjalmar-Nilsson Änderungen in der Berücksichtigung der Züchtungsarten und der Auslesemethoden erfolgten, ebenso haben sich solche seither weiter vollzogen und es ist bei diesen in allererster Linie auf die noch zu erwähnende Erkenntnis der Bedeutung der Linientrennung in morphologisch einheitlichen Formen durch Nilsson-Ehle, sowie auf die besonders seit 1900 erfolgte weitgehende Heranziehung der Bastardierung durch den eben Genannten und H. Tedin zu verweisen.¹⁾

Die erwähnte nicht voll genügende Darstellung der Svalöfer Arbeiten in der Literatur hat mich auch veranlaßt in Svalöf immer wieder derauf zu dringen, daß auch in deutscher Sprache über die dortigen Arbeiten berichtet wird, was nunmehr im Vorjahre zum erstenmal in der von mir zusammengestellten Sammlung von Referaten über Züchtungsarbeiten im „Journal für Landwirtschaft“ geschah.

Hj. Nilsson selbst spricht sich über das Svalöfer Verfahren nur einmal in deutscher Sprache aus²⁾, er hebt hervor, daß in Svalöf 1892 zuerst die „einzelne lebende Pflanze als das reale Individuum erkannt“ wurde, „womit man in Erblichkeitsfragen allein zu rechnen berechtigt ist“ und daß die Fähigkeit der Pedigreekultur, also der Individualauslese, festgestellt wurde „zahllose Rassen leicht und schnell zu fixieren“. Hier wird demnach nur der Wert der Individualauslese mit Ausgang von einer vollständig beurteilten ganzen Pflanze betont. Eine Andeutung darüber, ob die Auslese fortgesetzt wird oder nicht, findet sich nicht. Etwas mehr über den Svalöfer Auslesevorgang erfährt man aus den Ausführungen Elofson's in der 1905 erfolgten Veröffentlichung: „Rein botanische Charakter werden mit der neuen, gegenüber der Neergard'schen (seit 1893 unter Nilsson angewendeten) Methode als Auswahlmerkmale gebraucht; so ging man zur Separatkultur einzelner Zuchtpflanzen über.“ „Die Pedigreekultur ist dabei das Hilfsmittel um den bei der Mutterpflanze vorhandenen Typus zur Konstanz zu bringen.

¹⁾ H. Nilsson-Ehle, Journ. für Landw. 1908, p. 299—311. Kreuzungsuntersuchungen an Weizen und Hafer. Lunds Univ. Areshrift 1909. H. Tedin, Journ. für Landw. 1909, p. 164.

²⁾ Einige kurze Notizen über die schwedische Pflanzenveredlung zu Svalöf. Malmö 1898.

Sie besteht darin, daß man jährlich von derjenigen Form, die man fixieren will, eine typische Pflanze auswählt und deren Körner aussät, also eine Zucht in gerader Linie mit den Nachkommen eines einzigen Individuums.“ Hier wird demnach festgestellt, daß eine Fortsetzung der Auslese in jeder Individualauslese stattfand und zwar mit jährlich nur einer Pflanze, also ohne Vergleich von Nachkommenschaften in einer Individualauslese; im übrigen wird auch hier noch ausdrücklich die alleinige Beachtung morphologischer Merkmale bei Wahl der Ausgangspflanze betont.

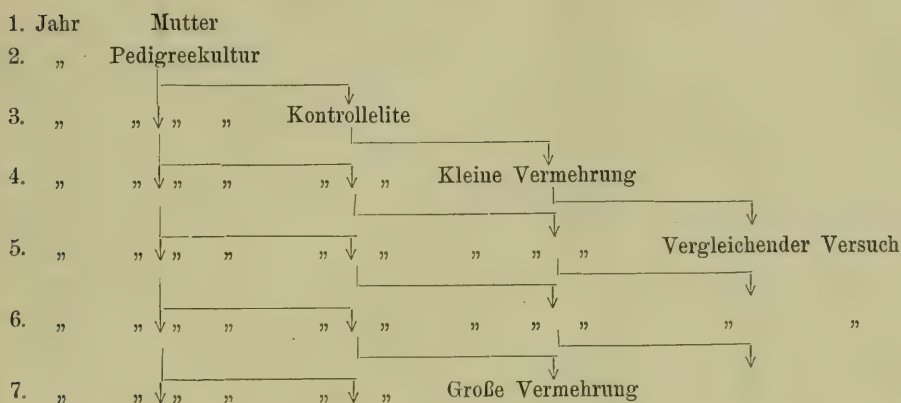
Einen genaueren Einblick in das Svalöfer Verfahren sollten die Veröffentlichungen von de Vries und Holtmeier, sowie eine von Gisevius besorgte auszugsweise Übersetzung der Veröffentlichung eines Finnländers, Elfving vermitteln. de Vries hält den Eindruck fest, den man bisher vielfach von dem Svalöfer Verfahren hatte und der am schärfsten in den folgend angeführten Sätzen zum Ausdruck kommt, die sich in seiner Besprechung des Svalöfer Ausleseverfahrens finden: „Andererseits sind diese neuen Sorten (die in Svalöf gezüchteten Formen) durchaus konstant und es kommt nur darauf an, sie von ihren Verwandten zu isolieren.“ „Dies geschieht durch eine einmalige Auslese einer einzigen Pflanze.“ Die Nachkommenschaft „braucht nur vermehrt zu werden und es sind in der Regel etwa 5—6 Jahre erforderlich, um aus der anfänglichen Mutterpflanze die ausreichenden Saatmengen für den Anfang der Großkultur zu erlangen.“¹⁾ „Diese Beobachtungen führten zur Festlegung des anderen großen Zuchtgrundsatzes, von dem Genügen einer einzigen Anfangswahl. Nach ihr braucht der isolierte Typus nur vermehrt und frei von zufälligen Beimischungen gehalten zu werden.“²⁾

Die in Svalöf noch lange nach Neergaard betriebene Fortsetzung der Auslese wird von Holtmeier und dem erwähnten finnischen Landwirt beschrieben. Danach wird die einzelne Individualauslese mit den Körnern einer Pflanze begründet, die einzeln 15:5 cm weit bei Getreide, 26:6—8 cm weit bei Hülsenfrüchten in einer sog. Pedigreekultur gesät werden. Die Konstanz wird durch Besichtigung geprüft, eine typische Pflanze zur Fortsetzung der Auslese verwendet (Pedigreekultur des nächsten Jahres — eventuell, bei Variabilität größeren Umfanges, Begründung neuer Individualauslesen je mit einer abweichenden Pflanze) der Rest der Pflanzen bei Konstanz für sog. Kontrolleliten des je nächsten Jahres benutzt. Die Kontrolleliten dienen der weiteren Beobachtung der Konstanz und bereits auch der vergleichenden Prüfung. Es schließt sich dann Vervielfältigung mit weiter vergleichender Prüfung an, indem die Ernte einer Kontroll-

¹⁾ Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie, 1906, S. 326, 337.

²⁾ Pflanzenzüchtung, S. 64.

elite im je nächsten Jahr zur Besäung einer sog. kleinen Vermehrung, die Ernte dieser im nächsten Jahr zur Besäung eines sog. vergleichenden Versuches verwendet wird. Das Schema, das sich nach Holtmeier's Ausführungen¹⁾ zusammenstellen läßt, ist das folgende:



Wieder anders sieht das Svalöfer Verfahren nach den Ausführungen des finnländischen Landwirts aus, der nach Gisevius ein eingehendes Studium an Ort und Stelle trieb. Nach den gemachten Angaben²⁾ läßt sich das folgende Schema zusammenstellen, dessen Anordnung von mir umgestellt und mit jener des eben gegebenen in Übereinstimmung gebracht ist (siehe S. 312).

Nach diesem Schema (siehe S. 312) erfolgt demnach nicht nur ständige Auslese, sondern es ist auch die Möglichkeit für einen Vergleich von Nachkommenschaften in jeder Individualauslese gegeben, da auch mehrere Stammeliten verwendet werden.

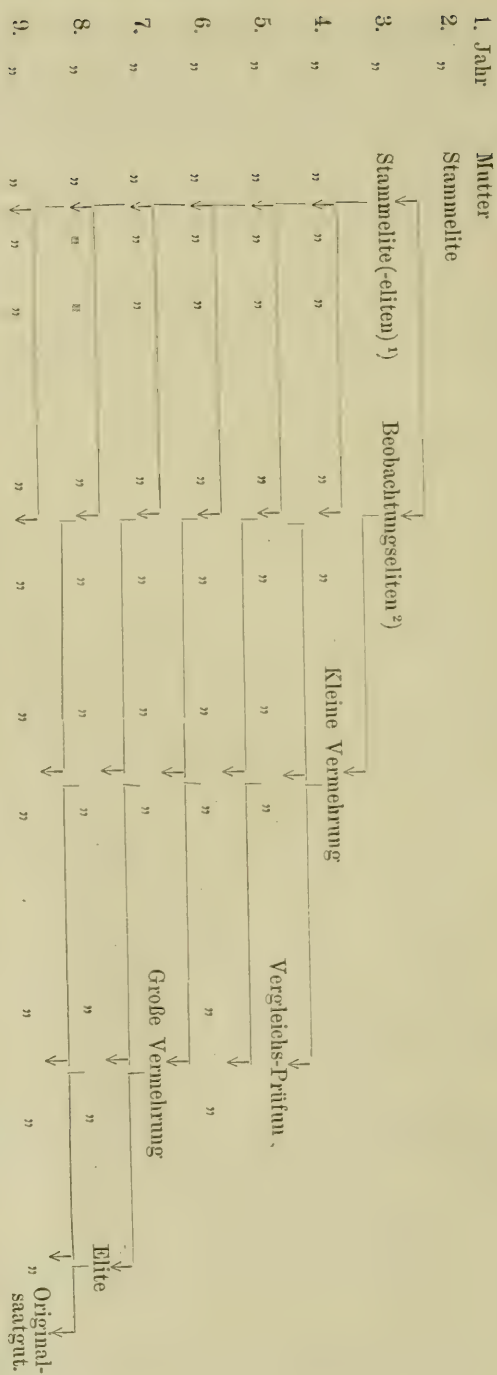
Von den in den Schemas verwendeten besonderen Bezeichnungen ist Pedigreekultur und Stammelite gleich Nachkommenschaft einer Elitepflanze zu setzen. Die Kontrolleliten, kleinen und großen Vermehrungen, vergleichenden Versuche und die Elite entsprechen Vielfältigung des Auslesesaatgutes.

Aus den, außerhalb Schwedens erst im Vorjahr bekannt gewordenen, neuesten Veröffentlichungen von Nilsson-Ehle³⁾ geht endlich hervor, daß man in Svalöf nun auch erkannt hat, daß die Nebeneinanderführung von Individualauslesen nicht nur zur Sonderung

¹⁾ Landwirtschaftliches Jahrbuch, 1907.

²⁾ Arbeiten der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen: Vorträge über Pflanzenzüchtung von Fruwirth, Gisevius, Holdefleiß, Störmer, v. Tschermak. 1908.

³⁾ Nilsson-Ehle, H., Botaniska Notiser, 1907, S. 113. Autorreferat in Journal für Landwirtschaft, 1908, S. 294, sowie weitere Referate daselbst S. 292—294 und 296—311.



¹⁾ Jährlich 1, 2 oder mehrere hervorragend typische Stammpflanzen, die Nachkommenschaft einer jeden für sich gehalten.

²⁾ Restliche Pflanzen der Stammeliten des Vorjahres.

morphologisch unterscheidbarer Formen verwendet werden kann, worauf ich wiederholt hinwies.¹⁾ Es werden in Svalöf von Nilsson-Ehle seit 1901—1903, bei Weizen und Hafer auch Formenkreise abgeschieden, die nur durch solche Eigenschaften von einander verschieden sind, welche der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind und den Lebenstypen Johannsen's, dem was hier Linie (Typus) genannt wird, entsprechen.

Wenn daher das Svalöfer Verfahren bisher häufig als ein solches mit nur einmaliger Auslese gilt, so ist es nicht entsprechend, dasselbe einfach als ein solches zu bezeichnen; es haben in Svalöf Wandlungen in den Ansichten über den Wert und die Anwendung der Fortsetzung der Auslese stattgefunden. Ebenso wird es nicht mehr zutreffen, wenn man das Svalöfer Verfahren als ein solches bezeichnet, das nur mit morphologisch unterscheidbaren Formen arbeitet. Der besonders hohe Wert der ersten Auslese — der Auslese der Ausgangspflanze einer jeden Individualauslese — wird anerkannt, Soweit heute in Svalöf eine Fortsetzung der Auslese vorgenommen wird, erwartet man von dieser — und dieses ist der springende Punkt — nicht eine Verbesserung der Form, eine Lenkung der Variabilität, sondern nur eine Kontrolle der Variabilität. In diesem Sinne sagt auch Johannsen: „Soweit ich den Publikationen des Svalöfer Instituts habe folgen können, vereinigen sich die dortigen Erfahrungen zu der Anschauung, daß jeder selbständige Formtypus konstant ist, und zwar ist dies so zu verstehen, daß selbst fortgesetzte einseitige Selektionen nicht zu einer allmählichen Verschiebung des Typus führt.“²⁾ Bezüglich der Züchtungsarten wird man zu den von de Vries bei den Svalöfer Arbeiten unterschiedenen, zeitlich einander folgenden Perioden: vorwiegend Formtrennung, Formtrennung mit Berücksichtigung spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften, noch eine weitere hinzufügen können: Züchtung durch Veredlungszüchtung, durch Formtrennung und durch Bastardierung. Die Abscheidung von Typen (Linien) entspricht dabei der Veredlungszüchtung.

Zu der Ansicht, daß Fortsetzung der Auslese nicht fördert, gelangten auch Beseler und Nolè. Es sei aber vorweg bemerkt, daß sie beide mit Selbstbefruchtern arbeiteten, sowie auch Svalöf zunächst nur solche der Züchtung unterwarf.

Die Beobachtungen Beseler's gehen den Svalöfer voraus, beziehen sich aber, nach allem was mitgeteilt wurde, mehr auf Typen-(Linien-)trennung, als auf Trennung morphologisch unterscheidbarer Formen. Ganz klar zu stellen ist eben der Ursprung der von Beseler erhaltenen „Square head-Familien“ aus den vorliegenden

¹⁾ Untersuchungen (1906) 1907, S. 156. Fühling's landw. Ztg., 1908, S. 127.

²⁾ Über Erblichkeit, S. 6.

Berichten¹⁾ nicht, da mitgeteilt wird, daß die Nachkommenschaft von drei 1884 ausgewählten Ähren — also von drei Pflanzen — im Jahre 1885 ein Gemisch von verschiedenartig ausgebildeten Pflanzen lieferte, aus welchem 16 verschiedene Typen ausgelesen wurden, deren rein gehaltene Nachkommenschaften als Familien bezeichnet wurden. Es liegt ja nahe, an spontane Bastardierungen zu denken, dagegen spricht aber die Konstanz der Formen, die 1886 bei allen Formen vorhanden war. Nimmt man spontane Variabilität als Ursache an, so müßte dieselbe ungemein stark aufgetreten sein, da drei Ähren 16 Typen lieferten. Von 1887—1889 wurden die „Familien“ anderweitig weitergebaut und Beseler berichtet allerdings, daß in den 3 Jahren „sich die 16 Typen zwar mehr oder weniger verwischt“ hatten, es ihm aber in einigen Jahren mit dem gleich zu beschreibenden Zuchtverfahren gelang, „fünf Familien soweit konstant herzustellen“, daß er sie in den Handel geben konnte.²⁾ Der springende Punkt für die Darlegung an diesem Ort ist nun die Erwähnung des Zuchtverfahrens, das von Beseler 1908 (1909) beschrieben wird.²⁾ Danach wird im Zuchtgarten (seit 1890 offenbar; S. 191 loco cit.) jede Reihe eines Zuchtbeetes nur mit Körnern einer Pflanze besäet, während der ganzen Vegetationszeit beobachtet und von jeder der besten Reihen die beste, wüchsigste Pflanze für den Anbau des nächsten Jahres zurückbehalten. Haben sich die Nachkommenschaften einer Pflanze mehrere Jahre hindurch bewährt, so wird Vervielfältigung vorgenommen, an die sich feldmäßige Prüfung anschließt. Es wurde demnach Individualauslese mit Fortsetzung der Auslese vorgenommen und letztere mit jährlich nur einer Pflanze durchgeführt. Beseler urteilt nun aus dem Erfolg derartiger Auslese bei Weizen und Hafer wie folgt: „Dadurch bin ich zu der Überzeugung gelangt und habe es oft ausgesprochen, daß durch fortgesetzte Selektion wir eigentlich nur den Rückgang der Rasse in ihren wertvollen Eigenschaften verhindern können, indem wir aus der Ernte des Zuchtbeetes und auch des Vermehrungsfeldes alles Minderwertige ausscheiden, unliebsame Variationen oder Produkte natürlicher Kreuzungen, welche uns die ganze Rasse verderben können.“ Diese Ausführungen decken sich ganz mit meinen 1906 ausgesprochenen. Ebenso die folgende Äußerung Beseler's: „Bei dieser Arbeit haben wir immer die Chance, einen wertvollen Mutanten zu entdecken oder auch einmal eine Variation, welche sich doch als wertvoll erweisen könnte.“³⁾

¹⁾ Beseler und Maerker, Über die Züchtung von Square head-Familien. Magdeburger Zeitung, 1887, Nr. 138. Beseler, Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 1904.

²⁾ Jahrbuch der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1909, S. 191.

³⁾ Jahrbuch der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, 1909, S. 193.

Nolč gelangte nach einem 2 Jahre hindurch fortgesetzten Versuch mit Massenauslese von Ähren bei Veredlungszüchtung von Gerste zu der Erkenntnis, daß nur Individualauslese — mit der Pflanze als Gegenstand der Auslese — Einheitlichkeit in der Nachkommenschaft verbürgen kann und wendete dieses Verfahren dann, zunächst ohne Fortsetzung der Auslese, an.¹⁾

Das von Hays in St. Antony Park angewendete Ausleseverfahren ist mit seinen Wandlungen bereits besprochen worden. Es weist beschränkte Dauer der Auslese auf, stellt daher einen Übergang zwischen dem Verfahren mit einmaliger und jenem mit ständiger Auslese dar. Eine Äußerung Hays' würde sich selbst für ständige Auslese in Anspruch nehmen lassen: „Since the plants of each succeeding generation also vary, by repeatedly choosing the best the variety or race is further improved.“²⁾ Einmalige Auslese wird von Ten Eyck bei dem ear row-Verfahren befürwortet (S. 303).

Einen bedeutenden Einfluß auf die Ansichten über die Ausführung der Auslese bei Züchtung hatte bereits das Werk de Vries': „Die Mutationstheorie“³⁾, dann die kleine vorläufige Veröffentlichung von Johansen: „Über Erbllichkeit in Populationen und in reinen Linien.“⁴⁾ Dieser Einfluß wurde durch das Werk von de Vries: „Plant breeding“⁵⁾ und die Ausführungen dieses Forschers über Svalöf verstärkt.⁶⁾

Es ist naheliegend, daß de Vries, als er mit den Arbeiten Svalöf's bekannt wurde, in denselben eine Art praktischer Anwendung der Formenkreisbildung erblickte, wie sie seiner Ansicht über die Entstehung der Formen entspricht. Die gewöhnlich gebauten landwirtschaftlichen Sorten enthalten demnach eine Reihe von elementaren Arten und gelegentlich entstehen durch mutative Vorgänge — oder, wie es die landwirtschaftliche Züchtung nennt, durch spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften — neue solche. Das, was in Svalöf geschah, war nun aber — neben Absonderung allfälliger Ergebnisse spontaner Bastardierungen — längere Zeit hindurch nichts anderes, als die Trennung und Erhaltung bereits seit längerer Zeit vorhandener elementarer Arten oder die Erhaltung spontan neu aufgetauchter. Solche elementare Arten sind aber nach

¹⁾ Bericht der Versuchsanstalt für Brauindustrie in Böhmen, 1902.

²⁾ Plant breeding. U. S. Dep. of Agr., Bulletin 29, Dep. of veget. pathol., 1901, S. 17.

³⁾ Die Mutationstheorie. Leipzig 1901 u. 1903.

⁴⁾ Jena 1903.

⁵⁾ Plant breeding, 1901, 1. Aufl. Die deutsche Übersetzung erschien erst 1908 und konnte noch keinen Einfluß ausüben.

⁶⁾ Biologisches Centralblatt, 1906, S. 395. — Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie, 1906, S. 325. — Revue scientifique, 1904, 4. April.

der Mutationstheorie konstant und die individuelle kleine Variabilität, die sich bei ihnen findet, ist durch Auslese nicht dauernd zu verschieben. In Svalöf wurde, wie bereits ausgeführt, auch der Unwert einer solchen weiteren Auslese erkannt und zuerst nur auf die Auslese bei morphologisch unterscheidbaren Formen Wert gelegt.

de Vries konnte daher mit Recht die ihm bekannt gewordenen Svalöfer Erfahrungen als weiteren Beweis für seine Ansichten heranziehen. Nun findet sich bei de Vries aber eine Äußerung, die aufgegriffen und zu unrichtigen Schlüssen verwendet worden ist. Ich habe an anderer Stelle darauf verwiesen, daß man diese unrichtigen Schlüsse nicht de Vries zuschreiben darf. Ich habe Stellen aus seinen Ausführungen citiert, welche deutlich zeigen, daß er den hier so wichtigen Einfluß des Herrschens von Selbst- oder Fremdbefruchtung auf die Auslese natürlich berücksichtigt hat, wenn er ihn auch nur bei Mais würdigte und daß er die nur einmalige Auslese nicht als durchaus genügend betrachtete.¹⁾ Die Stelle bei de Vries, welche irre führte, bezieht sich auf die bereits erwähnte Roggenzüchtung Rimpau's und lautet: „Hätte Rimpau im Jahre 1867 unsere jetzigen Kenntnisse der Variabilität der Getreidearten zu seiner Verfügung gehabt, so hätte er wahrscheinlich seine Anfangsähren genau so ausgewählt, wie er es getan hat, er hätte aber ihre Körner für jede einzelne Ähre getrennt ausgesät. Er hätte dann im nächsten Jahre die so erhaltenen Eliten miteinander und mit seinem idealen Vorbilde verglichen und sofort gefunden, daß eine dem letzteren besser entsprach, als alle übrigen. Diese letzteren würde er dann ohne weiteres ausgemerzt und nur von der einen besten seine Kultur fortgesetzt haben; er würde dann auch die Rasse sofort konstant gefunden haben. Oder mit anderen Worten, er hätte genau dieselbe Rasse, welche jetzt den Namen seiner Domäne berühmt macht, mittels einer einzigen Wahl isoliert und sie in weiteren Jahren ohne weitere Selektion derart vermehrt, daß er sie in den Handel bringen könnte. Er hätte nicht 20—25, sondern nur 4 oder 5 Jahre gebraucht, um genau dasselbe Ziel zu erreichen.“²⁾

de Vries hat nicht beabsichtigt, die Ausleseverfahren in ihrer landwirtschaftlichen Bedeutung zu kritisieren und hebt dies am gleichen Ort ausdrücklich hervor. Die Empfehlung nur einmaliger Auslese hat aber häufig unter Verweis auf die eben erwähnte Äußerung über Rimpau's Roggenzüchtung auch in landwirtschaftlichen Blättern Eingang gefunden.

Johannsen hat durch das Ergebnis seiner Versuche mit Erbsen, Gerste und Fisolen — Versuche, die seit Erscheinen der

¹⁾ Fruwirth, Die Allmacht der züchterischen Auslese bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Neue Freie Presse „Landwirtschaftliche Zeitung“, 1908.

²⁾ Biologisches Centralbl. 1906, S. 395.

ersten Mitteilung über dieselben¹⁾ weitergeführt wurden²⁾ — gezeigt, daß Auslese in Populationen imstande ist, das Mittel bei fluktuierend variablen Eigenschaften im gewünschten Sinne zu verschieben. Diese Auslesewirkung ist aber ihrem Werte nach jener Sonderung elementarer Arten, die sich durch morphologische Eigenschaften voneinander unterscheiden, gleich zu setzen, wie sie früher in Svalöf in erster Linie betrieben wurde. Es entspricht vielfachen Beobachtungen, daß in einem morphologisch einheitlichen Formenkreis voneinander erblich verschiedene Formenkreise enthalten sind, welche bei fluktuierend variablen Eigenschaften ihre Mittel ungefähr verhältnismäßig vererben. Es sind dies Formenkreise, die Johannsen jetzt Biotypen nennt.³⁾ Bei Selbstbefruchtern können auch solche Formenkreise durch nur einmalige Auslese von einzelnen Pflanzen und nachfolgende Vervielfältigung ihrer Nachkommenschaft erhalten werden. Ich hatte 1906, um ausdrücklich auf die Möglichkeit einer solchen Typen-(Linien-)trennung zu verweisen, die Bezeichnung Veredlungszüchtung durch Linientrennung eingeführt⁴⁾, dieselbe aber später nicht mehr aufrecht erhalten, da bald danach die Kunde kam, daß Svalöf selbst nun auch diese Art der Züchtung betreibt.⁵⁾ Ich wollte damit einen Auslesevorgang bezeichnen, der bei Veredlungszüchtung, also bei Berücksichtigung von Eigenschaften mit individueller kleiner Variabilität angewendet werden kann und dem entspricht, was früher in Svalöf allein bei morphologisch unterscheidbaren Formen ausgeführt wurde.

Unbeirrt durch das, was über die Erfahrungen in Svalöf und in St. Antony Parks immer und immer wieder hervorgehoben wurde, entwickelte sich bei Veredlungszüchtung ein Ausleseverfahren in Deutschland und fast gleichzeitig in Nordamerika, das ich als das deutsche bezeichnete, weil v. Lochow es zuerst zur Ausführung brachte. Früher hatte ich es auch mit dem langen Namen Nebeneinanderführung von Individualauslesen mit Fortsetzung der Auslese von Pflanzen und Nachkommenschaften bezeichnet.⁶⁾ Meine Erhebungen über die erste Einführung dieses Verfahrens in Deutschland ergaben die folgenden Daten:

v. Lochow-Petkus: 1894 zuerst die Leistung der Nachkommenschaft der einzelnen Pflanzen gelegentlich notiert.

¹⁾ Über Erbllichkeit in Populationen und in reinen Linien. Jena 1903.

²⁾ Elemente.

³⁾ Elemente, S. 501. Schon früher in der mir unbekannten dänischen Ausgabe.

⁴⁾ Archiv, S. 156. — Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 57. Jahrg., S. 127.

⁵⁾ Nilsson-Ehle, Botaniska Notiser, 1907. Refer. Journ. f. Landw., 1908, S. 294.

⁶⁾ Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, 2. Aufl., I. Bd., S. 219 u. 236, 1. Aufl., S. 207.

v. Lochow-Petkus: Von Ernte 1895 ab über die Leistung der Nachkommenschaft der einzelnen Pflanzen Buch geführt.

- 1896 auf der Ausstellung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft einzelne Elitestauden und ihre Nachkommenschaft ausgestellt.

Steiger-Leutewitz: 1879. Einführung der Auslese einzelner Pflanzen (Drechsler, Wittmack, Vanha, Nobbe machen davon in ihren Berichten in den Jahrbüchern der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft noch keine Erwähnung).

- 1897. Einführung der Auslese von Pflanzen aus beurteilten Nachkommenschaften.

Strube-Schlanstedt: 1901. Einführung der Auslese von Pflanzen aus beurteilten Nachkommenschaften.

- 1905. Einführung der Beurteilung auch der zweiten Generation der Nachkommen der Elitepflanzen.¹⁾

Als kennzeichnend für den deutschen Auslesevorgang habe ich dreierlei bezeichnet: den gleichzeitigen Ausgang von mehreren bestimmten Individuen, den getrennten vergleichenden Anbau der Nachkommenschaft derselben in der ersten Generation und die Wahl von Elitepflanzen aus diesen Nachkommenschaften, endlich die Fortsetzung der Wahl von Elitepflanzen und Nachkommenschaften innerhalb jeder der Individualauslesen, wobei auch ein Vergleich der Individualauslesen stattfindet, so daß nicht nur einzelne Nachkommenschaften, sondern auch ganze Individualauslesen zur Ausscheidung kommen können. Zur Vervielfältigung kommt bei diesem Vorgang — entweder für alle Individualauslesen zusammen oder für jede getrennt — der Rest der besten Nachkommenschaften und die gesamten nächstbesten Nachkommenschaften. Der ganze Vorgang läßt sich durch ein Schema darstellen, wie ich solche zur raschen Vorführung der Ausleseverfahren verwende (Fig. 4).

Das Ausleseverfahren, das Hopkins an der landwirtschaftlichen Versuchsstation zu Urbana bei Veredlungszüchtung bei Mais einführte, und das Smith fortsetzte, kommt dem deutschen Ausleseverfahren nahe. Hopkins begann 1896 mit Auslese von Kolben und legte die Körner eines jeden Kolbens für sich. Es wurden vier verschieden gerichtete Veredlungszüchtungen durchgeführt, eine nach niederem und eine nach hohem Proteingehalt, sowie eine nach niederem und eine nach hohem Fettgehalt. Das Ausleseverfahren war in jeder der Zuchten das gleiche und bestand darin, daß in der Nachkommenschaft einer jeden Ausgangspflanze jährlich entweder eine Pflanze²⁾

¹⁾ Fruwirth, Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich, 1907, S. 487.

²⁾ Tatsächlich wurde bei dieser Züchtung in jedem Jahr nicht die ganze Pflanze, sondern nur ein Kolben derselben untersucht.

gewählt wurde oder eine Mehrzahl solcher und die Nachkommenschaft einer jeden gewählten Pflanze wieder für sich gehalten wurde. Geschlechtlich konnten sich in den ersten Jahren alle Nachkommenschaften beeinflussen, später wurde ein besonderer Vorgang zur Verhinderung von Inzucht eingeführt. Die Auslese wurde eine Auslese von Nachkommenschaften nach dem Mittel für die Ausleseeeigenschaft ermöglicht haben, es wurde aber die Auslese von Pflanzen derart durchgeführt, daß man nur jene mit dem höchsten (beziehungsweise niedersten) Ausmaß wählte, ohne Rücksicht auf die Gesamtleistung der Nachkommenschaften, die in den gleichfalls festgestellten Mitteln für die Ausleseeeigenschaft zum Ausdruck kommt. Der Vorgang entspricht dem von mir bei Veredlungszüchtung von Mais, Hafer und Ackerbohne seit 1898—1907 angewendeten und steht bei dieser Züchtungsart gegenüber jenem zurück, bei welchem die Nachkommenauslese der Pflanzenauslese vorangeht.

Auch Martinet ist im Verlaufe seiner Versuche mit Getreidezüchtung zu dem geschilderten, von mir deutsches genannten Verfahren übergegangen und beschreibt dies 1907 selbst.¹⁾ Er geht demnach auch von einzelnen Pflanzen aus, beurteilt die erste Nachkommenschaft derselben und liest in jeder Nachkommenschaft weiter Elitepflanzen aus, deren Nachkommenschaften wieder beurteilt werden und wieder Elitepflanzen geben. Verschieden von dem Verfahren anderer Züchter ist nur, daß jene Pflanzen, welche neben den Elitepflanzen eines Jahres in einer Nachkommenschaft übrig bleiben, erst nach drei Pflanzen- und zwei Nachkommenschaftenauslesen zur Vielfältigung und zur Gewinnung von veredeltem Originalsaatgut, das abgegeben werden kann, genommen werden. Es werden sowohl Nachkommenschaften als auch ganze Individualauslesen ausgeschieden. Eine nach diesem Verfahren genau verfolgte Züchtung, die mit Hafer 1903 begonnen wurde, zeigte verschiedene Variationen morphologischer Eigenschaften, deren Natur nicht festgestellt ist, die aber recht wohl Bastardierungsfolgen sein können, da die Individualauslesen nebeneinander standen und Weizen wie Hafer gelegentlich spontane Bastardierung zeigen. Das Auftauchen dieser Varianten führte Martinet zur weiteren Schätzung des Verfahrens und zur Betonung der Notwendigkeit der Fortsetzung der Auslese: *La seule conclusion que nous nous permettons de donner pour le moment, c'est que, contrairement à des opinions récemment émises, la sélection doit s'exercer sur plusieurs générations successives et aussie longtemps que la variabilité persiste.*²⁾

Das deutsche Ausleseverfahren kann nun einen weiteren Ausbau dadurch erfahren, daß man innerhalb jeder Individualauslese in jedem

¹⁾ Annuaire agricole de la Suisse, 1907.

²⁾ Annuaire agricole de la Suisse, 1907, S. 63.

Jahr gewissermaßen neue Individualauslesen beginnt, indem man die Nachkommenschaft jeder vom ersten Jahr ab ausgelesenen Elitepflanze nicht nur im je nächsten Jahr getrennt hält, sondern noch ein zweites Jahr oder selbst weiter bis zum Verkauf von Saatgut. Eine derartige Ausgestaltung hat mit zweijähriger Beobachtung der Nachkommenschaften Strube-Schlanstedt im Jahr 1905 eingeführt, ebenso, wie eben erwähnt wurde, Martinet. Mit Beobachtung und Vergleich bis zum Verkauf wurde der Vorgang von der Saatzuchtwirtschaft Loosdorf (Direktor Schreyvogel mit den Herren der Samenkontrollstation Wien, Abteilung für Getreidezüchtung: Pammer und Freudl¹⁾) durchgeführt. Ein derartiger Vorgang stellt natürlich an die Leistungsfähigkeit einer Zuchtwirtschaft ganz erhebliche Ansprüche, da die Zahl der Beete, Parzellen und Felder, die besonders zu säen, zu beobachten und zu ernten sind, eine ganz erhebliche wird (Fig. 4), bei Züchtung mehrerer Arten auf einer Wirtschaft kaum mehr zu überblicken ist. Bei Fremdbefruchtung ist die geschlechtliche Trennung so vieler Abteilungen kaum mehr durchzuführen und ist dies nicht möglich, so leidet die Sicherheit der Beurteilung. Bei Selbstbefruchtern besteht der Vorteil der längeren getrennten Fortführung der weiteren Nachkommenschaft einer jeden einzelnen Elitepflanze, die innerhalb einer Individualauslese gewonnen wird, in einer größeren Sicherheit der Beurteilung. Etwaige Linienmutationen oder spontane Bastardierungen von Linien werden dabei eher entdeckt werden.

Die früher in Deutschland angewendeten Ausleseverfahren fußen, so wie das früher in Schweden von Neergaard verwendete auf der Idee der stetigen Verbesserung einer Form durch fortgesetzte Auslese und wie wir gesehen haben, kommt die ständige Auslese auch bei dem neuen eben besprochenen deutschen Ausleseverfahren und bei dem in Svalöf nach Neergaard einige Zeit hindurch durchgeführten Verfahren in Anwendung. Dies wurde von de Vries noch nicht beachtet, er stellte nur das ältere deutsche Verfahren einem der schwedischen Svalöfer gegenüber. Dabei nimmt er für das ältere deutsche Verfahren als kennzeichnend die Fortsetzung der Auslese, die Fortführung der Elite im Zuchtgarten und die jährliche Abspaltung eines Zweiges von dieser Elite zur Schaffung von Verkaufssaatgut in Anspruch. Das schwedische Verfahren kennzeichnet er als solches mit nur einmaliger Auslese von elementaren, morphologisch voneinander unterscheidbaren Formen mit bloßer Vervielfältigung der gesamten Nachkommenschaft. Daß mittlerweile in Deutschland, wie wir gesehen haben, auch andere Verfahren in Anwendung gekommen

¹⁾ Freudl, Pflanzenbau und Saatgutzüchtung auf dem Landgute Loosdorf bei Mistelbach, 1907, Wien.

sind und daß das schwedische Verfahren auch Wandlungen durchgemacht hat, ist für die Entscheidung der von de Vries in seinem Buche „Pflanzenzüchtung“ aufgeworfenen Frage, welche der beiden oben gekennzeichneten Richtungen besser ist, von keiner Bedeutung. de Vries neigt sich dem ursprünglichen schwedischen Verfahren zu, geht aber nicht so weit, es einfach als das beste zu empfehlen.

Die Anwendbarkeit einmaliger oder fortgesetzter Auslese.

Die Entscheidung über den Wert der zwei gekennzeichneten Ausleseverfahren spitzt sich zur Entscheidung über einmalige oder fortgesetzte Vornahme von Auslese zu. Sie wird in erster Linie davon bedingt, ob man es mit einer Pflanze zu tun hat, welche ausschließlich oder fast ausschließlich der Selbstbefruchtung unterworfen ist oder einer solchen, bei welcher Fremdbefruchtung herrscht.¹⁾

In zweiter Linie wird die Züchtungsart einen Einfluß auf die Entscheidung ausüben, aber schon mehr aus wirtschaftlichen Rücksichten.

Bei Pflanzen, welche überwiegend der Fremdbefruchtung unterworfen sind, kann die einmalige Auslese nicht genügen, da es in Wirklichkeit wohl nie eintreten wird, daß bei solchen eine im Feldbestand aufgefundene Pflanze nur Nachbarbestäubung ausgesetzt war und bei ihr und ihren Vorfahren nur solche wirkte. Unter den normalen Verhältnissen wird eine solche Pflanze die verschiedensten Vererbungstendenzen in sich tragen, welche bei Auslese in der Nachkommenschaft weiter in verschiedenartiger Weise zusammentreten können. Diese Vielheit von Vererbungstendenzen und die gegenseitige geschlechtliche Beeinflussung ausgelesener Individuen veranlaßt die unbedingte Notwendigkeit, die Auslese solange fortzusetzen, bis ein Erfolg erreicht ist, bewirkt aber auch, daß während der Auslese eine Steigerung der Eigenschaft, nach welcher ausgelesen wird, eintreten kann. Daran ändert der Umstand nichts, daß man gelegentlich bei der Nachkommenschaft einer im Feldbestand aufgefundenen fremdbefruchtenden Pflanze sehr weitgehende Vererbung findet. Eine solche läßt sich beispielsweise oft bei Kornfarbe bei Roggen, Empfänglichkeit gegen Pilzkrankheiten bei Klee, Wachstumseigentümlichkeiten bei Gräsern beobachten.

Der Unterschied zwischen Auslesewirkung bei einer fremdbefruchtenden und einer selbstbefruchtenden Art kommt beispielsweise in der Gegenüberstellung des Erfolges fortgesetzter Auslese zum Ausdruck; einerseits bei einer Veredlungszüchtung bei Mais, die Hopkins durchführte und andererseits bei einer solchen, die ich bei Erbse

¹⁾ Fruwirth, Fühling's landwirtschaftliche Zeitung, 1908, Heft 4.

in einer Linie ausführte.¹⁾ Während die Auslese bei Mais eine deutliche und erhebliche Zunahme, beziehungsweise bei Retourselektion, Abnahme von Fettgehalt und Proteingehalt brachte, wurde bei Erbse bei der Auslese, die nach zwei verschiedenen Richtungen in einer Linie stattfand, kein Erfolg erzielt; beide Auslesen bei Erbse zeigten nach 6 Jahren für die beiden Eigenschaften annähernd die gleichen Mittelzahlen.

Die Abscheidung eines bestimmten geschlechtlichen Gemisches wird bei Fremdbefruchtern erst nach mehrmaliger Auslese möglich sein.²⁾ Dagegen kann bei Selbstbefruchtern eine Abscheidung von Linien schon durch einmalige Auslese erfolgen.³⁾ Man wird es daher erklärlich finden, daß das sog. schwedische Verfahren einmaliger Auslese in Svalöf zur Aufnahme kam, woselbst man bis vor kurzer Zeit nur mit Erbse, Weizen, nickender Gerste und Hafer arbeitete, mit Pflanzen demnach, die als Selbstbefruchter gelten und Selbstbefruchtung weitaus überwiegend zeigen, wenn auch von Erbse ab in der Reihenfolge die Ausnahmefälle der Fremdbefruchtung immer häufiger werden. Andererseits wird es erklärlich, warum das ältere deutsche Ausleseverfahren, das de Vries meint und das von v. Lochow und von Hopkins eingeführte, die Fortsetzung der Auslese betonen. Die Genannten züchteten eben Fremdbefruchter. Der Vorkämpfer für deutsche Pflanzenzüchtung, Rimpau, der das ältere deutsche Ausleseverfahren begründete, arbeitete mit dem Fremdbefruchter Roggen und sein Verfahren fand zunächst Nachahmung. v. Lochow arbeitete bei Ausbildung seines Verfahrens auch nur mit Roggen und Hopkins mit dem Fremdbefruchter Mais. Im Gartenbau herrschen Fremdbefruchter vor und gärtnerische Züchter betonen daher auch die Notwendigkeit der Fortsetzung der Auslese.

In zwei Arbeiten⁴⁾ bin ich für die Fortsetzung der Auslese auch bei Selbstbefruchtern eingetreten. Ich habe dies trotz der Befunde Johannsen's, mit welchen meine Versuche mit Erbsen und Gerste

¹⁾ Hopkins, Univers of Illinois. Agr. Exp. St. Bull., 53 und 87. — Davenport, desgl. Bull. 107. — Smith, desgl. Bull. 128. — Fruwirth, Untersuchungen. — Gegenüberstellung mit Zahlen in: Die Züchtung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, I, 3. Aufl., 1908, S. 239—244.

²⁾ Beispiel von Versuchen bei Fruwirth, Einmalige, S. 507, 508. — v. Rümker, Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau, V, 1909, S. 70 u. 199.

³⁾ Beispiel von Versuchen bei Johannsen, Über Erblichkeit und Fruwirth, Einmalige, S. 505—507, 511, 513, 515.

⁴⁾ Einmalige oder fortgesetzte Auslese bei Individualzüchtung von Getreide und Hülsenfrüchten. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, 1907. Untersuchung über den Erfolg und die zweckmäßigste Art der Durchführung von Veredlungsauslesezüchtung bei Pflanzen mit Selbstbefruchtung, 1907, Archivgesellschaft München, jetzt Teubner-Leipzig.

übereinstimmten und trotz der Ausführung von de Vries getan. Seither ist v. Rümker zu ähnlichen Schlüssen gelangt.¹⁾

Daß bei Fremdbefruchtern einmalige Auslese nicht genügen kann, bedarf keiner weiteren Begründung. Die Gründe, welche ich in den beiden erwähnten Arbeiten, auf Grund von Versuchen, zunächst für Veredlungszüchtung, für die Fortsetzung der Auslese auch bei Selbstbefruchtern anführte, sind die folgenden²⁾:

1. Die Variabilität ist nicht aufgehoben, sie kann auch in Individualauslesen, die reine Linien sind, Variationen, entweder Linienmutationen oder aber selbst spontane Variationen morphologischer Eigenschaften bedingen.

2. Bastardierungen treten auch bei Pflanzen, die als Selbstbefruchter gelten, gelegentlich auf und können neue Formen bilden. Bei Bastardierung können sowohl morphologisch voneinander unterscheidbare Formen geschlechtlich zusammentreten, als auch Vertreter von Typen (Linien), die sich nur durch Mittel solcher Eigenschaften voneinander unterscheiden, die der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind.

3. Die Sicherheit der Beurteilung gewinnt bei wiederholter Auslese. Die Beurteilung bei Eigenschaften, welche der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind, ist nur durch den Vergleich der Mittel für die Eigenschaft bei den verschiedenen Linien möglich. Diese Mittel sind aber auch von äußeren Verhältnissen abhängig und es ist ihr gegenseitiges Verhältnis deutlicher erst nach mehrjähriger Beobachtung festzustellen. Dies wurde seither auch von Johanness³⁾ und von Nilsson-Ehle⁴⁾ hervorgehoben. — Einzelne Zweige innerhalb einer Individualauslese können — auch bei einheitlicher Vererbung der Mittel für die einzelnen Eigenschaften, doch, auch bei Selbstbefruchtung — Unterschiede in der Wüchsigkeit zeigen, welche bei Fortsetzung der Auslese kontrolliert werden.

Ich hatte damals noch einen weiteren Grund angeführt, jenen, daß „die Unmöglichkeit des Erfolges in Auslese in reinen Linien nicht erwiesen ist, wenn auch die Unwirksamkeit einer solchen Auslese sehr deutlich auch wieder aus den mitgeteilten Versuchen hervorgeht“. Damals lagen nur die ersten Versuche Johanness's über diesen Gegenstand vor, die nur einige Jahre umfaßten, die dreijährigen Versuche Krarup's mit Hafer und meine sechsjährigen Versuche mit

¹⁾ Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau, 1909. — Während des Druckes erschien eine Arbeit von Kraus, welche den gleichen Standpunkt auf Grund vieljähriger Erfahrungen an der Saatzuchanstalt Weißenstephan einnimmt: Fühling's landw. Ztg. 1909.

²⁾ Untersuchung, S. 313.

³⁾ Elemente, S. 145.

⁴⁾ Bot. Notiser. Deutsches Referat: Journal für Landwirtschaft, 1908, S. 296.

Erbse. Seither hat Johannsen seine Versuche bis zu 6 Jahren weitergeführt und ist zu keinem anderen Ergebnis gelangt.¹⁾ v. Rümker, der seither mit Sommerweizen arbeitete²⁾, neigt sich auch der Ansicht der Wirkungslosigkeit der Auslese in Linien zu und Beseler spricht jetzt die gleiche Ansicht auf Grund jahrelanger Erfahrung aus.³⁾ Sie geht auch aus einer älteren erst kürzlich in Deutschland bekannt gewordenen Arbeit Nilsson-Ehle's hervor.⁴⁾ Man wird daher wohl diesen Grund für die Fortsetzung der Auslese fallen lassen können. An anderem Ort⁵⁾ habe ich aber noch zwei weitere Gründe angeführt. Es läßt sich bei Fortsetzung der Auslese auch das von mir in einigen Fällen beobachtete seltene Wiederauftauchen des normalen Merkmales des Formenkreises beobachten, aus welchem eine spontane Variation morphologischer Eigenschaften ausgelesen worden ist und es läßt sich bei Züchtung von Zwischenrassen nur dabei der Übergang von Mittel- zu Halb- oder Halb- zu Vollrasse feststellen.

Wenn ich die Notwendigkeit der ständigen Fortsetzung der Auslese bei Veredlungszüchtung besonders hervorhob, so geschah dies deshalb, weil die Variationen bei Eigenschaften, die der individuellen kleinen Variabilität unterworfen sind, weit schwerer zu erkennen sind, als das Auftauchen neuer morphologischer Merkmale. Für Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Bastardierung halte ich dann, wenn bei derselben Konstanz erreicht worden ist, eine nur kontrollierende Auslese für ausreichend, die schließlich auch bei Veredlungszüchtung von Selbstbefruchtern nach einigen Jahren der Auslese möglich ist. Eine solche kontrollierende Auslese kann darin bestehen, daß im Zuchtgarten ein Stamm weitergeführt wird, bei welchem je nur nach mehreren Jahren eine genauere Untersuchung erfolgt, nach welcher dann wieder Auslesesaatgut zur Vervielfältigung abgespalten wird. Sie kann aber auch so erfolgen, daß man nach je einigen Jahren aus dem rein gehaltenen Feldbestand, der aus der Individualauslese hervorging, Pflanzen wählt und mit ihnen eine neue Reihe von Individualauslesen beginnt, die nach einer durch einige Jahre geführten Auslese wieder Auslesesaatgut zur Vervielfältigung geben.

¹⁾ Elemente, S. 145.

²⁾ Mitteilungen der landwirtschaftlichen Institute der Universität Breslau, 1909.

³⁾ S. 314.

⁴⁾ Referat Journ. für Landw., 1908, S. 293.

⁵⁾ Die Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, I, 3. Aufl., 1909, S. 210, 252.

Zusammenfassung.

Die ersten Anfänge züchterischer Tätigkeit bei landwirtschaftlichen Pflanzen, die in Ausscheidung schwerer Körner bestanden, trifft man nur bei Veredlungszüchtung bei Getreide und Hülsenfrüchten an. Ein immerhin wesentlicher Fortschritt war schon die Auslese von Fruchtständen bei Veredlungszüchtung, die auf Getreide beschränkt blieb und sich bei Mokry in Ungarn und Rimpau in Deutschland zuerst fand. Bei anderen Pflanzen war ausnahmslos immer die Pflanze Gegenstand der Auslese und bei den anderen Züchtungsarten trifft man sie auch bei Getreide fast allein verwendet. Die Auslese von Körnern und Fruchtständen ist heute auch bei Getreide aus dem Zuchtbetriebe fast ganz verschwunden, hat sich aber im gewöhnlichen Wirtschaftsbetrieb erhalten. In solchem kann Körnerauslese, als Abscheidung schwerer Körner, auf die je nächste Generation vorteilhaft wirken, Fruchtstandauslese immerhin auch einen züchterischen Erfolg ermöglichen, jedenfalls eine Reinhaltung oder Reinigung von Sorten bei Selbstbefruchtern.

Das Verdienst, die Wichtigkeit des Ausganges der Auslese von der Pflanze zuerst ausgesprochen zu haben, gebührt L. Lévêque de Vilmorin, praktische Anwendung des Ausganges von einzelnen Pflanzen finden wir schon 1819 bei Shirreff bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen, 1823 bei Le Couteur bei Züchtung durch Formentrennung. Einzelne besondere Fälle machen es zweckmäßig nach Auslese von Pflanzen wieder auf die Auslese einzelner Teile derselben zurückzugehen, immer muß aber bei landwirtschaftlicher Züchtung die Pflanze in erster Linie berücksichtigt werden. Ob bei Veredlungszüchtung das Zurückgreifen auf einzelne Teile der Auslesepflanze einen Fortschritt bedeutet, der einigermaßen mit dem Mehraufwand an Arbeit im Einklang steht, ist fraglich.

Gegenüber der Massenauslese ist die Individualauslese mit Ausgang von einer Pflanze und Getrennthaltung der Nachkommenschaft derselben ein hervorragender Fortschritt. Wir finden die Bedeutung der Individualauslese zuerst von L. Lévêque de Vilmorin bei Veredlungszüchtung der Zuckerrübe erkannt. Für Veredlungszüchtung ist diese Auslesemethode von besonderem Wert; bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen ergibt sie sich durch die Seltenheit solcher Variationen eher von selbst. Bei Züchtung durch Bastardierung wurde ihr Wert durch Mendel's Forschungen nachdrücklich hervorgehoben, bei Züchtung durch Formentrennung war Svalöf unter H. Nilsson, Nilsson-Ehle, Tedin besonders anregend.

Die Schätzung der Individualauslese hat zu Versuchen geführt dieselbe auch bei Fremdbefruchtern zur Durchführung zu bringen.

Die Versuche führten zur Ausbildung verschiedener Schutzvorrichtungen zum Einschließen ganzer Pflanzen und solchem der Nachkommenschaft einzelner Pflanzen und zu Untersuchungen über die Möglichkeit bei den einzelnen Fremdbefruchtern Same von eingeschlossenen Pflanzen zu gewinnen. In Fällen, wo eine solche Samengewinnung nicht gelang, wurde zu Verfahren gegriffen, welche in weitgehender Vervielfältigung der Ausgangspflanze durch Vermehrung bestehen (Klee, Gräser) oder es wurde an die Heranziehung von Insekten bei der Befruchtung eingeschlossener Pflanzen geschritten (Klee).

Bei Neuzüchtung ergibt sich bei Individualauslese eine Nachkommenbeurteilung gewissermaßen von selbst und ist eine solche einfach durchzuführen. Bei Veredlungszüchtung hat wieder L. Lévêque de Vilmorin zuerst die Zweckmäßigkeit einer solchen ausgesprochen. Besondere Durchbildung erfuhr sie bei Veredlungszüchtung durch Hays im centgener-Verfahren, durch v. Lochow bei dem deutschen Ausleseverfahren und im head to row-Verfahren verschiedener amerikanischer Züchter. Bei dem Umstand, daß die Äußerungen der individuellen kleinen Variabilität immer mit Modifikationserscheinungen durch Standort und Witterung verquickt sind, sowie bei dem Umstand, daß ein Übergreifen des Varianten eines Typus in jene des anderen stattfindet, ist die Einführung der Nachkommenbeurteilung bei Selbstbefruchtern von hohem Wert. Bei Fremdbefruchtern ist sie es erst, welche die Folgen geschlechtlicher Zusammentritte erkennen läßt.

Einzelne Züchter haben die Nachkommenbeurteilung bei Veredlungszüchtung über die Beurteilung der unmittelbaren Nachkommenschaft der einzelnen Auslesepflanze hinaus ausgedehnt. Sie halten die Nachkommenschaften der einzelnen Auslesepflanze mehrere Generationen hindurch getrennt und vergleichen sie dabei. Erst die Nachkommenbeurteilung ermöglicht es den Wert einer Auslesepflanze für die Züchtung genau zu ermitteln, da nur das, was die Pflanze überträgt, züchterischen Wert besitzt.

Besondere Verfahren zielten bei Individualauslese bei Fremdbefruchtern dahin, den Einfluß der Nachkommenschaften aufeinander je vor erfolgter Prüfung derselben auszuschließen. Es sollte dadurch verhindert werden, daß minder gute Nachkommenschaften, bevor sie als solche erkannt sind, bereits auf andere Nachkommenschaften eingewirkt haben.

Es war nur ein kleiner, fast selbstverständlicher Schritt, der von der Führung einer Individualauslese zur Nebeneinanderführung mehrerer führte, aber er erhöhte die Möglichkeit für den Erfolg ganz erheblich.

Ständige Auslese wurde vor und lange Zeit nach Darwin bei jeder Züchtung für notwendig erachtet und kam bei landwirtschaftlichen Pflanzen bei Veredlungszüchtung zuerst bei Hallet und

Mokry zu besonderer Betonung. Bei Züchtung im Gartenbau galt die Ständigkeit der Auslese als erster Grundsatz. Des belgischen Obstzüchters van Mons Ausspruch galt als vorbildlich: „Säen, wieder säen, nochmals säen, ständig säen, kurz, nichts tun als zu säen (und dabei immer auslesen), ist der Vorgang, der verfolgt werden muß und von dem man nicht abgehen kann; in Kürze ist dies das ganze Geheimnis der Kunst, die ich verwendete.“

Der erste Anstoß zu Erwägungen über Einschränkung der Dauer der Auslese ging von Züchtung durch Formentrennung in Svalöf aus. Dort wurde von H. J. Nilsson erkannt, daß die einzelnen morphologisch unterscheidbaren Formen in sogenannten Sorten rein vererben und bei Anwendung von Individualauslese weitere Auslese die Merkmale nicht stärker zum Ausdruck bringt. Eine Begründung hätte der Vorgang bei Züchtung durch Formentrennung eigentlich schon in den Forschungen Jordan's finden können. Die Versuche von Johansen, dann Nilsson-Ehle, Krarup, v. Rümker und mir boten eine weitere, die für Veredlungszüchtung Bedeutung besaß und den Unterschied der Auslesewirkung bei Populationen und bei reinen Linien (= Individualauslesen von Selbstbefruchtern) klar legte. Trotzdem erfolgt immer verbreiteter wieder eine Wertschätzung ständiger Auslese. Die Begründung für dieselbe ist aber jetzt eine andere als früher. Während man früher von der Fortsetzung der Auslese bei Veredlungszüchtung allgemein eine Steigerung im Sinne der Auslese als Auslesewirkung erwartete, unterscheidet man jetzt nach Befruchtungsart. Man erblickt jetzt in der Fortsetzung der Auslese bei Selbstbefruchtern nur mehr ein Mittel bei Veredlungszüchtung die Linien sicher zu unterscheiden und eine Kontrolle gegen zufällige Variabilität. Bei Fremdbefruchtern erwartet man bei Veredlungszüchtung durch die Fortsetzung der Auslese die Bildung einer bestimmten geschlechtlichen Linienmischung und erklärt Fortschritte durch die Ausscheidung ungünstiger Nachkommenschaften und die Förderung des geschlechtlichen Zusammentrittes günstiger. Bei Neuzüchtung sieht man die Wirkung einer Fortsetzung der Auslese bis zur Konstanz allgemein als jene einer Auslese nach Bastardierung an, die spaltende Nachkommenschaften beseitigt. Nach Erreichung der Konstanz braucht Auslese bei Neuzüchtung nur kontrollierend zu wirken.

Der hohe Wert der Wahl guter Ausgangsindividuen wurde durch die Forschungen de Vries' nahegelegt und wird durch die Erkenntnis der Notwendigkeit, die Auslese doch fortzusetzen, nicht herabgesetzt. Die Auffindung der besten Individuen macht es notwendig, möglichst viele Ausgangsindividuen zu verwenden und an Stelle der Fortführung einer Individualauslese ein Nebeneinanderlaufen mehrerer solcher treten zu lassen. Die Auffindung der „großen Unbekannten“, des

besten Individuums, ist ja eigentlich, wenn von Bastardierung abgesehen wird, der Angelpunkt der Züchtung.

Bei Selbstbefruchtern schafft die Züchtung als solche weder bei Veredlungszüchtung noch bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften, noch bei Züchtung durch Formentrennung, sie sucht nur auf und kontrolliert die Variabilität. Hier gilt wohl uneingeschränkt van Mon's' Ausspruch: „La nature seul crée.“ Ob die Forschungen Mac Dougal's den Anfang zu einer praktisch anwendbaren Erzeugung von Varianten morphologischer Eigenschaften darstellen, muß die Zukunft entscheiden.

Bei Fremdbefruchtern reinigt die Auslese der Züchtung, wenn sie bei Neuzüchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und durch Formentrennung angewendet wird. Sie kann aber bei Veredlungszüchtung, sowie bei Züchtung durch Bastardierung durch die Regelung der geschlechtlichen Zusammenkünfte auch Neues schaffen. Auch in diesem Fall ist natürlich der Wert der Ausgangsindividuen von Wichtigkeit.

Die großen Erfolge, welche Svalöf bei landwirtschaftlichen und Burbank bei Gartenpflanzen erzielt haben, sind, so wie jene, welche viel früher, um den Anfang des 19. Jahrhunderts, von van Mons bei Obst erzielt wurden, auf die Heranziehung einer ungemein großen Zahl von Individuen, möglichst vieler Herkünfte zurückzuführen. Diese Heranziehung möglichst vieler Ausgangsindividuen kommt auch in den amerikanischen centgener- und head to row-Verfahren zum Ausdruck und in des Amerikaner Hansen's Ausleseverfahren bei Obst.

Als das vollkommenste Ausleseverfahren kann heute wohl jenes bezeichnet werden, das v. Lochow zuerst im praktischen Betriebe anwendete und das seine Begründung schon in Erfahrungen findet, die L. Ph. Lévêque de Vilmorin machte und mitteilte. Wenn dieses Verfahren, das ich auch als das deutsche bezeichnete, als das vollkommenste hervorgehoben wird, so ist damit aber nicht gesagt, daß es zweckmäßig sein wird, es im praktischen Züchtungsbetrieb in allen Fällen anzuwenden. Es spielt da eben immer das ökonomische Moment mit, das dazu veranlassen kann, eine kleine Unsicherheit in Kauf zu nehmen, wenn ihre Vermeidung erheblich höheren Aufwand fordert. So begnügt man sich bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften nach Eintreten von Konstanz mit einer bloß kontrollierenden Auslese, ebenso bei Züchtung durch Bastardierung nach erreichter Konstanz. Es wird aber immerhin auch bei Veredlungszüchtung von Selbstbefruchtern das billigere Verfahren einer nur mehrmaligen Auslese an Stelle ständiger angewendet werden können.

Die Technik der Züchtung ist heute für Selbstbefruchter jedenfalls weitgehend ausgebildet. Bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung bedarf es meist keiner weiteren Auslese; schon nach ein oder zwei Auslesen tritt zutage, ob es sich um den gewöhnlichen Fall der Konstanz oder um Zwischenrassen oder die seltenen nicht konstanten spontanen Variationen morphologischer Eigenschaften handelt. Das Ziel ist die Abscheidung von Formen, die sich durch morphologische Eigenschaften voneinander unterscheiden, also den elementaren Arten de Vries' und ihren Varietäten entsprechen. Die Aufindung solcher Formen und ihre Entwicklung zu Formenkreisen ist aber nicht das für praktische Zwecke Maßgebende. Erst die vergleichende Prüfung der einzelnen Formenkreise entscheidet in der Landwirtschaft über den Wert der Form. Im Gartenbau kann die neue morphologische Eigenschaft als solche den Wert der Formenkreise bilden. Bei Züchtung durch Bastardierung wird bis zur Erreichung der Konstanz, ebenso wie bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen bis zum Eintritt von Konstanz, Nebeneinanderführung von Individualauslesen mit Auslese von Nachkommenschaften und Pflanzen fortgeführt. Nach erreichter Konstanz bleibt Auslese oft ganz weg, es genügt — wie erwähnt — aber jedenfalls kontrollierende Auslese. Die vergleichende Prüfung der Bastardierungsprodukte ist auch bei der Züchtung durch Bastardierung das Entscheidende.

Die Veredlungszüchtung wird immer mit mehrmaliger Auslese von Pflanzen und Nachkommenschaft rechnen müssen. Bei ihr ist das Ziel die Abscheidung von Linien (Typen). Eine solche kann bei Selbstbefruchtern allerdings schon durch einmalige Auslese von Pflanzen erfolgen, aber die Beurteilung der Linien erfordert mindestens noch eine Auslese von Nachkommenschaften, gelingt aber sicherer erst nach mehrmaliger Auslese solcher. Ob dann die Auslese weitergeführt wird, hängt wieder von ökonomischen Momenten ab. Daß weitere Variationen durch spontanes Variieren morphologischer Eigenschaften und durch spontane Bastardierung möglich sind, wurde bereits betont. Daß auch bei strengen Selbstbefruchtern Auslese einzelner Zweige innerhalb der Linie fördert, wird auch heute noch von manchen Züchtern behauptet. Ist es der Fall, so kann, wenn Bastardierung und spontane Variabilität morphologischer Eigenschaften ausgeschlossen war, eben eine Linienmutation Ursache sein, es ist nicht anzunehmen, daß die Auslese als solche das Ergebnis bewirkt hat.

Die Technik der Züchtung bei Fremdbefruchtern ist eine von jener bei Selbstbefruchtern abweichende. Bei Fremdbefruchtern wird in allen Fällen die Auslese fortzusetzen sein. Die Technik kann aber bei diesen Pflanzen — wenigstens für Veredlungs-

züchtung — nicht als so abgeschlossen wie bei Selbstbefruchtern bezeichnet werden.

Bei Züchtung durch Auslese spontaner Variationen morphologischer Eigenschaften und Züchtung durch Formentrennung hat die Auslese die gewünschte Form von Bastardierungseinflüssen zu reinigen und fällt demnach mit einer Auslese nach Bastardierung zusammen. Die Durchführung erfolgt am sichersten durch Nebeneinanderführung von Individualauslesen mit Fortsetzung der Auslese bis zur Konstanz und mit geschlechtlicher Trennung der einzelnen Nachkommenschaften. Bei Veredlungszüchtung ist man über den Weg der Auslese weniger sicher. Das deutsche Ausleseverfahren, wie es v. Lochow zuerst angewendet hat, befriedigte bei dem Fremdbefruchter Roggen. Dagegen hat man in Amerika bei dem Fremdbefruchter Mais, wegen allfälliger Folgen von Inzucht, Bedenken gegen dieses Verfahren. Es wurden daselbst daher bei Mais verschiedene umständliche Verfahren zur Verhütung einer Inzucht in Anwendung gebracht. Auch die Beurteilung der Nachkommenschaften ist keine so einfache, wie bei Selbstbefruchtern, da bei gewöhnlicher Art der Durchführung des deutschen Ausleseverfahrens eine gegenseitige Beeinflussung der Mütter stattfindet. Es steht endlich auch noch die Beantwortung der Frage aus, ob bei Fremdbefruchtern durch weitergeführte strenge geschlechtliche Isolierung der einzelnen Individualauslesen ein besserer Erfolg erzielt werden kann, als durch Nebeneinanderführung derselben ohne geschlechtliche Trennung, wie sie bei dem deutschen Ausleseverfahren erfolgt.

Die Auslese bei Züchtung durch Auslese spontaner Variation morphologischer Eigenschaften, durch Formentrennung und durch Bastardierung hatte immer die Aufgabe, die beste Form zu isolieren, sei es durch einfache Abscheidung oder durch allmähliche Reinigung von geschlechtlichen Vermischungen. Diese Aufgabe wurde aber auch der Auslese bei Veredlungszüchtung allmählich zuerkannt. Von der primitiven Auslese von Samen, Früchten und Fruchtständen ist sie, über die Auslese von Pflanzen, zu einer solchen von Nachkommenschaften in einer Individualauslese, endlich zu der Auslese von Individualauslesen fortgeschritten. Die Absonderung von Individualauslesen entspricht bei Ausschluß geschlechtlicher Mischung der Trennung von Typen innerhalb morphologisch einheitlicher Formen, bei Möglichkeit geschlechtlicher Mischung der Abscheidung bestimmter geschlechtlicher Typengemische.

✓Bibliographies of Botany.

A contribution toward a bibliotheca bibliographica,
compiled and annotated

by

J. Christian Bay.

The present compilation is an outcome of more or less constant occupation with botanical literature for many years. While it appears here in an independent form its development has been in a way incidental to that of a larger work — a bibliography of botany from 1870 to 1899. I choose to send it forth at the present time for the reason that it is now ready and really covers quite a distinct field, one of interest equally to bibliographers and to botanists. Bibliographers will, I hope, find it of some value as a suggestion for the treatment of its subject in that successor to Petzholdt's *Bibliotheca Bibliographica* for which we all are yearning. Botanists, on the other hand, may derive suggestions from the matter adduced, and inspiration from that which is lacking because it does not exist.

Both classes of interest will observe that the writer attempts here to maintain an equilibrium between what is termed absolute completeness, and usefulness for practical purposes. One way to compile a work of this kind would be to survey the field of botanical literature and select all titles of all real bibliographies and, additionally, of books and papers provided with lists of references. By such a method this bibliography would have numbered as many thousand entries as it now includes hundreds. But it is easily recognized that this kind of bibliographies must contain much futile matter hopelessly overshadowing the portions having real and permanent value. It is true nowadays we legitimately include with real bibliographies all incidental collections of titles made for the sake of literary and

historical investigation, even though their compilers may not at all have cared for bibliography as such. It also is recognized that many a slight list of titles appended to a paper on some narrowly limited topic, possess a distinct value as perhaps the only available "bibliography" of that topic. But this kind of material must be selected with great care. Although having clearly in view the principle of selection in this field I cannot hope to satisfy all demands on the part of others, in the inclusion of such special bibliographies. But I hope to have erred mainly on the side of inclusion rather than on that of exclusion, even though some matter must have eluded my search.

Another class of bibliographies calls for a note of explanation. The history of botany numbers many works of bibliographical importance. An experience with the botanical literature of smaller localities shows how valuable, even for purely bibliographic purposes, local historico-botanical treatises may be, especially when more comprehensive bibliographies for the region in question are lacking. Hence, I have included freely some historical matter — both general treatises and local histories of botany.

It is almost needless to explain that collective reviews: the form of topical bibliography so common and so very useful, have been diligently sought out and noted.

A number of librarians and botanists in all parts of the world have rendered valuable aid in the preparation of this as in that of my larger work, and I acknowledge this help with gratitude. But my aim has been to quote nothing that I had not seen. Happily, the cases where I must rely upon data supplied by kind colleagues, are hardly two per cent. My successive connection with large and excellent libraries — the Missouri Botanical Garden, the Library of Congress, the John Crerar Library — has been of great advantage to this work.

It was hoped that Heinrich Römer's great bibliography, left by him in manuscript, afterwards purchased by Henckel von Donnersmarck and lost since the death of Count Henckel, would have been found before the present time. A voluminous correspondence with institutions and localities where the manuscript might repose, gave hitherto but a negative result. But my search continues.

In the final editing of this work, as indeed in the acquirement of what may be termed a definite philosophy of the greater cause that I aim to serve, much valuable suggestion was derived from V. Grundtvig's masterful essay, *Gedanken über Bibliographie* (in *Centralblatt für Bibliothekswesen* XX (1903), p. 405—444).

The collations given in detail for some periodicals are inserted both as a matter of information and, secondarily, to emphasise the

method of Dryander, as regards the treatment of periodicals in a bibliographical record. We stand in great need of normal collations for botanical — and other — serial publications. The collation of a set of *Botanisches Centralblatt* often falls to the share of librarians and booksellers, and certain volumes present difficulties that make a normal collation, based upon a careful comparative study of various sets, highly desirable. How, indeed, would it be possible to verify a set of *Philosophical Transactions* previous to 1800 if it were not for the detailed collation given by Dryander in the first volume of the *Banks Catalogue*? Junk's collation of the *Regensburger Flora* is work of the same quality. Pritzel's enduring fame rests upon the same thing.

Arrangement.

1. *Methodology.*
 2. *Periodicals and Reviews (General).*
 - 2a. *Collective Indexes to Periodicals.*
 3. *General and Comprehensive Bibliographies.*
Supplement I. Bibliographical catalogues of private collections.
Supplement II. Bibliographical catalogues of public collections.
 - 3a. *National (Regional) Bibliographies.*
 4. *Morphology and Anatomy. Micro-Technique. Teratology.*
 5. *Plant Geography. Systematic Botany. Ecology. Nomenclature.*
 - 5a. *Phanerogamae.*
 - 5b. *Cryptogamae.*
 6. *Plant Physiology. Phenology. Biology.*
 7. *Palaeobotany.*
 8. *Economic Botany.*
 9. *Bibliographies of individual works.*
1. *Collective.* — 2. *Individual.*
 10. *Libraries of Institutions. Lists of publications at Institutions.*
 11. *Auction and Sales Catalogues of private libraries.*
 12. *Booksellers' Catalogues (Trade Lists).*
-

1. Methodology.

Bay, J. Christian.

Contributions to the theory and history of botanical bibliography.

(In Proceed. and papers, Bibliographical Society of America, v. I, part I: 1904—1905 (1906), p. 75—83. — Reprinted in *Annotationes Concilii Bibliographici*, Zürich, v. II (1906), p. 15—19.)

Chaboisseau, Th.

Notes de bibliographie botanique.

(In Bull. Soc. Botan. de France XVII and XVIII (1870—1871); separately, Paris, Imp. Martinet, 1872. 27 p. 8°.)

Henckel von Donnersmarck, Leo Victor Felix, Graf.

Ueber botanische Bücherkunde.

(In Botan. Zeitung 1851, p. 785—792, 801—805.)

Treats of the scope, methodology and history of botanical bibliography. Rich in useful suggestions.

Rouy, G.

Un point de littérature botanique.

(In Bull. Soc. bot. France LV (1908), p. 548—550.)

Traverso, G. B.

Per un repertorio della bibliografia botanica italiana.

(In Boll. Soc. bot. ital. 1904, p. 42—44.)

2. Periodicals and Reviews.

Års-berättelse om botaniska arbeten . . . 1820—1854.

Öfversigt af de sednare årens botaniska arbeten och upptäckter, på Kongl. Vetenskaps-Academiens befallning lemnad år 1821, [af Joh. Em. Wikström]. Stockholm, Tryckt hos J. P. Lindhs Enka 1822.

84 p. 8°.

(In Årsberättelser om vetenskapernas framsteg, afgifne af Kongl. Vetenskaps-Academiens embetsman d. 31. Mars 1821. — Stockholm. 1822, p. 285—368.)

„Relationum annorum 1820, 1821, 1822, 1823 & 1824 exemplaria nonnulla (cum speciali paginatione) separatim excudit et Auctori donum dedit typographus; illa nondum in bibliopoliis venerunt, sed ab auctore fautoribus amicisque donata.“ — Wikström, Consp. lit. bot. in Suecia, 1831, p. 297.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter för år 1821 . . . lemnad d. 31. Mars 1822. Stockholm, Tryckt hos J. P. Lindhs Enka, 1822.

157 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . afgifne . . . 1822. Stockholm, 1822, p. 265—421.)

A new edition: Årsberättelse om framstegen uti botanik för år 1821. Ny upplaga. Stockholm, Tryckt hos P. A. Norstedt & söner, 1827. — 148 p. 8°. — (In Årsberättelser . . . Ny upplaga. 1827.)

„Editio nova hujus relationis speciali gaudet et pagina titulari et paginatione. Paulo brevior etiam est.“ — Wikström, l. c., p. 298.

Års-berättelse om botaniska arbeten . . . 1820—1854.

Öfversigt . . . för år 1822 . . . lemnad d. 31. Mars 1823. Stockholm, Tryckt hos G. P. Lindhs Enka, 1823.

105 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . afgifne 1823. Stockholm, 1823, p. 385—492.)

Öfversigt . . . för år 1823 . . . lemnad d. 31. Mars 1824. Stockholm, Tryckt hos P. A. Norstedt & söner, 1824.

119 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1824. Stockholm, 1824, p. 441—459.)

A new edition: Årsberättelse . . . för år 1823. Ny upplaga. (In Årsberättelser . . . Ny upplaga. [1827], p. 441—559.)

„Nova editio hujus tomī anno 1827 excusa est, quamquam pagina titularis annum 1824 exhibet. Relatio botanica revisa et emendata est, attamen eandem paginationem habet, quam in editione prima. Editionis novæ nulla excusa sunt exemplaria cum speciali pagina titulari & propria paginatione.“ — Wikström, l. c., p. 298—299.

Öfversigt . . . för år 1824 . . . lemnad d. 31. Mars 1825. Stockholm, P. A. Norstedt & söner, 1825.

64 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1825. Stockholm, 1825, p. 487—552.)

Öfversigt . . . för år 1825 . . . lemnad d. 31. Mars 1826, af Joh. Em. Wikström. Stockholm, Tryckt hos P. A. Norstedt & söner, 1826.

1 l., 160 p. 1 l. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1826. Stockholm, 1826, p. 1—160.)

„Relatio botanica anni 1825 et relationes annorum sequentium propriam habent et paginam titularem et paginationem.“ Wikström, l. c., p. 300.

Årsberättelse om framstegen uti botanik för året 1826. Till Kongl. Vetenskaps-Akademien afgifven den 31. Mars 1827. Stockholm, Tryckt hos P. A. Norstedt & söner, 1827.

1 l., VIII, 301, [1] p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1827 . . . Stockholm, 1827, p. 1—301.)

Årsberättelse . . . för år 1827 . . . Stockholm, . . . 1828.

XII, 371, [1] p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1828, p. 1—371.)

Års-berättelse . . . för år 1828 . . . Stockholm, . . . 1830.

XII, 269 p. 8°.

(In Års-berättelser . . . 1830, p. 1—269.)

Årsberättelse . . . för år 1829 . . . Stockholm, . . . 1831.

1 l., VIII, 185 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1831, p. 1—299.)

Års-berättelse . . . för år 1830 . . . Stockholm, . . . 1831.

1 l., VIII, 299 p. 8°.

(In Års-berättelser . . . 1831 . . .)

Årsberättelse . . . för år 1831 . . . Stockholm, . . . 1832.

X, 344 p. 8°.

(In Årsberättelser . . . 1832 . . .)

Årsberättelse . . . för år 1832 . . . Stockholm, . . . 1833.

X, 292 p. 8°.

Årsberättelse . . . för år 1833 . . . Stockholm, . . . 1834.

1 l., XI, 265 p. 8°.

Årsberättelse . . . för år 1834 . . . Stockholm, . . . 1835.

XII, 185 p. 8°.

Års-berättelse om botaniska arbeten . . . 1820—1854.

Årsberättelse . . . för år 1835 . . . Stockholm, . . . 1837.

XVI, 567 p. 8°.

After p. 410, 1 leaf folio.

Årsberättelse . . . för år 1836 . . . Stockholm, . . . 1838.

1 l., XV, 493, [1] p. 8°.

Årsberättelse . . . för år 1837 . . . Stockholm, . . . 1839.

XV, [I], 612 p. 8°.

p. 589—612: A. E. Lindblom, Berättelse om en botanisk resa till Dovre-Fjell i Norrige år 1837.

Års-berättelse . . . för år 1838 . . . Stockholm . . . 1842.

XVI, 644 p. 8°.

p. 491—639: G. W. Zetterstedt, Berättelse om en natur-historisk resa genom några provinser af nordligare Skandinavien, och särdeles Jämtland, år 1840.

Års-berättelser om botaniska arbeten och upptäckter för åren 1839, 1840, 1841 och 1842 till Kongl. Vetenskaps-Akademien afgifna den 31. Mars åren 1839, 1840, 1841 och 1842. Stockholm, P. A. Norstedt & söner, 1844.

XXXVIII, 1 l., 823 p. 8°.

Års-berättelser om botaniska arbeten och upptäckter för åren 1843 och 1844 . . . afgifna den 31. Mars åren 1843 och 1844. Stockholm, . . . 1849.

Förra — Sednare Delen.

Förra Delen: XXIV, 1—427 p., 1 l.; Sednare Delen: XV, 429—736 p. and Bihang: 80 p., followed by 1 l. containing corrections to reports 1843—1844. 8°.

Bihang: Anderson, N. J. Berättelse öfver en resa genom Skåne och Halland under sommaren år 1846; etc.

Års-berättelser om botaniska arbeten och upptäckter för åren 1845, 1846, 1847 och 1848 . . . Stockholm, . . . 1850—1855.

Förra Delen: 1850. Sednare Delen: 1855.

Förra Delen: 1 l., XXVII, 631 p.; Sednare Delen: XIII, 633—874 p. and Bihang, 88 p. 8°.

Bihang: Forssell, N. E., Anteckningar under resor i Portugal och Brasilien åren 1846 och 1847.

Års-berättelse om botaniska arbeten och upptäckter för år 1849 . . . Stockholm, 1852.

XIX, [1], 463 p., and Bihang, 30 p. 8°.

Bihang: Botaniska anteckningar under en . . . resa till och i Jemtland, under sommaren år 1850.

Års-berättelse om botaniska arbeten och upptäckter för år 1850 . . . Stockholm, . . . 1854.

XV, [1], 428 p., and Bihang: 46, 4 p. 8°.

Bihang: [Papers by R. F. Fristedt and L. L. Læstadius.]

Års-berättelse . . . för år 1851 . . . Stockholm, . . . 1855.

XII, 315 p. 8°.

Års-berättelse . . . för år 1852 . . . Stockholm, . . . 1857.

VII, 244 p. 8°.

Berättelse om botaniska arbeten och upptäckter under åren 1853 och 1854.

Till Kongl. Vetenskaps-Akademien afgifven af N. J. Andersson. Stockholm, P. A. Norstedt & söner, 1856.

XXIII, 292 p. 8°.

Års-berättelse om botaniska arbeten . . . 1820—1854.

Register öfver de till Kongl. Vetenskaps-Akademien af Joh. Em. Wikström afgifna års-berättelser i botanik för åren 1820 till och med 1838. På Kongl. Vetenskaps-Akademins föranstaltande upprättade af N. J. Anderson. Stockholm, P. A. Norstedt & söner, 1852.
VI, 170 p. 8°.

German translations:

Jahresberichte der Königlichen Schwedischen Akademie der Wissenschaften über die Fortschritte der Botanik in den letzten Jahren vor und bis 1820, und in den Jahren 1821, 1822 und 1824. Der Akademie übergeben d. 31. März 1821, 1822, 1823 und 1824 von Joh. Em. Wikström. Übersetzt und mit Hinweisungen auf neuere Arbeiten und mit Registern versehen von C. T. Beilschmied. Breslau, Gedruckt auf Kosten des Uebersetzers. In Commission by J. Max & Comp. 1838.

I l., 230, IV p. 8°.

Jahresbericht der Schwedischen Academie der Wissenschaften über die Fortschritte der Naturgeschichte, Anatomie und Physiologie der Thiere und Pflanzen. Aus dem Schwedischen mit Zusätzen von Dr. Johannes Müller . . . 1824. Der Uebersetzung erster Jahrgang. Bonn, bei Adolph Marcus, 1826.

Botanik: p. 99—228.

A translation of the Årsberättelser . . . afgifne 1824 (Tom. IV), covering the year 1823.

Jahresbericht der Königlichen Schwedischen Akademie der Wissenschaften über die Fortschritte der Naturgeschichte, Anatomie und Physiologie der Thiere und Pflanzen. Aus dem Schwedischen mit Zusätzen von Dr. Johannes Müller. 1825. Der Uebersetzung zweiter Jahrgang. Bonn, bei Adolph Marcus, 1828.

II. Botanischer Bericht von Joh. Em. Wikström, p. 129—216.

A translation of the Årsberättelser . . . afgifne 1826 (Tom. VI), covering the year 1825.

Jahresberichte der Königlichen Schwedischen Akademie der Wissenschaften über die Fortschritte der Botanik in den Jahren 1826 und 1827. Der Akademie übergeben d. 31. März 1827 und 1828, von Joh. Em. Wikström. Übersetzt und mit Bemerkungen versehen von C. T. Beilschmied. Breslau, Gedruckt auf Kosten des Uebersetzers. In Commission bei J. Max & Comp., 1839.

X, 283, [2] p. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1828. Der Akademie übergeben am 31. März 1829 von Joh. Em. Wikström. Übersetzt und mit Zusätzen versehen von C. T. Beilschmied. Breslau, in Commission by J. Max & Co., 1835.

VIII, 128 p. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1832 . . . übergeben am 31. März 1833 . . . Breslau 1835.

VIII, 182 [i. e., 185] p., 2 l. 8°.

After p. 182 follows "Register", 4 p. as follows: [183], 184, 149 [sic!], the last unnumbered.

Års-berättelse om botaniska arbeten . . . 1820—1854.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1833 . . . übergeben am 31. März 1834 . . . Uebersetzt und mit Zusätzen und dem Autoren-Register zu fünf Jahrgängen versehen von C. T. Beilschmied. Breslau . . . 1835.
X, 225 p. 8°.

“Pflanzen- (und Sach-) Register”: p. 213—216; Autoren-Register zu den Jahrgängen 1829, 30, 31, 32, 33: p. 216—223.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1834 . . . übergeben am 31. März 1835 . . . Übersetzt und mit Zusätzen und Registern versehen . . . Breslau . . . 1836.

XII, 232 p. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1835 . . . übergeben am 31. März 1836 . . . Breslau, Gedruckt auf Kosten des Übersetzers; in Comm. bei J. Max & Comp., 1838.

XIV, 422 p., 1 l. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1836 . . . übergeben am 31. März 1837 . . . Breslau, in Comm. bei J. Max & Comp., 1840.

VIII, 362 p. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1837 . . . übergeben am 31. März 1838 . . . Breslau . . . 1841.

VIII, 435 p. 8°.

Jahresbericht . . . der Botanik im Jahre 1838 . . . übergeben am 31. März 1839 . . . Breslau . . . 1843.

1 l., 531, [1] p. 8°.

Jahresberichte . . . der Botanik in den Jahren 1839—42 . . . übergeben am 31. März 1840, 1841, 1842, 1843 von Joh. Em. Wikström. Uebersetzt . . . von C. T. Beilschmied. Regensburg, Verlag d. Redaction der Flora, 1846. 1847 [sic!].

Erste Abtheilung: Phytographie.

1 l., 234 p. 8°.

[Zweite Abtheilung: Anatomie, Physiologie, etc.]

XV, p. [235]—502, 1 l. 8°.

Botanische Jahrbücher. 1881 —

Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie, hrsg. von A. Engler. Leipzig, Engelmann, 1881 —

Bd. I (1881) — In progress.

Vols. I—XIII contain systematically arranged lists of publications on plant geography covering in all the literature for the years 1879 to 1890. The entries on these lists are for the most part accompanied by reviews.

Botanische Zeitung. 1843 —

Botanische Zeitung. Leipzig, 1843 —

I (1843) — In progress.

From Jahrg. 51, (1893) published in two parts: Erste Abtheilung: Originalabhandlungen; Zweite Abtheilung, containing reviews and lists of current literature.

From the beginning to 1892 each number contained a select list of new literature; with 1893 these lists are published in the issues of the Zweite Abtheilung only.

— — Generalregister der ersten fünfzig Jahrgänge . . . Hrsg. von R. Aderhold. Leipzig, 1895.

391 p. 4to.

Botanischer Jahresbericht. 1873 —

Botanischer Jahresbericht. Systematisch geordnetes Repertorium der botanischen Literatur aller Länder. Berlin, Gebrüder Borntraeger.

Jahrg. I: 1873 (1874) —

In progress.

Jahrg. XI — have title: Just's Botanischer Jahresbericht . . .

Editors: Jahrg. I—X: L. Just; XI—XIV: E. Koehne and Th. Geyler;

XV—XXV: E. Koehne; XXVI—XXX: K. Schumann; XXXI: F. Fedde.

Botanisches Centralblatt. 1880 —

Botanisches Centralblatt. Referirendes Organ für das Gesamtgebiet der Botanik des In- und Auslandes. Hrsg. unter Mitwirkung zahlreicher Gelehrter von Dr. Oscar Uhlworm.

1. Jahrg. 1880 — 22. Jahrg. 1901.

Issued in weekly numbers.

Editors: Bd. I—VI, No. 20: O. Uhlworm; — Bd. VI, No. 21—

Bd. XXXIV: O. Uhlworm and W. J. Behrens. — Bd. XXXV,

No. 1—5/6: O. Uhlworm. — Bd. XXXV, No. 7 — Bd. LXXXVIII:

O. Uhlworm and F. G. Kohl.

Imprints: Bd. I—XXXV: Cassel, Verlag von Theodor Fischer. —

Bd. XXXVI—LXXXVIII: Cassel, Verlag von Gebrüder Gotthelft.

With Jahrgang II, each quarterly output of 13 numbers form a numbered volume with sep. title-page, table of contents, and pagination.

Botanisches Centralblatt. Referirendes Organ der Association Internationale des Botanistes. Hrsg. unter der Leitung [von] . . . K. Goebel, . . . F. O. Bower, . . . J. P. Lotsy . . . — Dr. J. P. Lotsy, Chefredacteur.

23. Jahrg. 1902 —

In progress.

Continues the previous.

Editors: Bd. LXXXIX—XCIII: K. Goebel, F. O. Bower, and

J. P. Lotsy. — Bd. XCIII: K. Goebel, F. O. Bower, Ch. Flahault, Wm. Trelease, and J. P. Lotsy.

Imprints: Bd. LXXXIX—C: Commissions-Verlag E. J. Brill in Leiden

(Holland). Druck von Gebr. Gotthelft . . . in Cassel. Bd. 101 —:

Jena, Gustav Fischer. Druck von Gebr. Gotthelft in Cassel.

From Jahrg. XXIII, each yearly output of 52 numbers is collected in three volumes, the two containing reviews, the third consisting only of the section "Neue Literatur", issued in the course of the year on separately numbered sheets, separately paged and indexed at end of year, when sep. title-page also is issued. The volumes of the "Neue Litteratur" are numbered as follows:

XCI: 1902; XCIV: 1903; XCVII: 1904; CI: 1905; CIV: 1906; CVII: 1907; CXI: 1908.

Collations:

I. Jahrg. 1880. No general title-page. Two primary sub-titles on sep. title-pages: I. Semester [incl. I.—II. Quartal]; II. Semester [incl. III.—IV. Quartal]. Four secondary sub-titles on sep. title-pages: I. Quartal. I. Band [incl. nos. 1—13]; II. Quartal. II. Bd. [incl. nos. 14—26]; III. Quartal. III. Band [incl. nos. 28—39]; IV. Quartal. IV. Band [incl. nos. 40—52]. — Paged continuously: LV, 1664 p., the separate title-pages not included in paging. — Has Gratis-Beilage I—III separately paged, each with half-title. Coll.: I: p. 1—28, 1—8, pl. I—II; II: p. 1—24; III: p. 1—40; pl. I—III.

Botanisches Centralblatt. 1880 —

II. Jahrg. 1881: I. Quartal. V. Band: XVIII, 410 p.; II. Qu. VI. Bd.: XV, 444 p.; III. Qu. VII. Bd.: XVI, 400 p.; has Beilage, separately paged, with half title, 15 p.; IV. Qu. VIII. Bd.: XIV, 419 p., pl. I—IV and one unnumbered pl. (portrait).

Portrait belongs to vol. VII, but was issued with vol. VIII.

III. Jahrg. 1882: I. Qu. IX. Bd.: XIII, 472 p., 1 fold. pl.; II. Qu. X. Bd.: XV, 472 p., 1 pl.; III. Qu. XI. Bd.: XII, 468 p., pl. I—V; IV. Qu. XII. Bd.: XVI, 449 p., 2 fold. pl.

IV. Jahrg. 1883: I. Qu. XIII. Bd.: XIII, 440 p., 6 pl.; II. Qu. XIV. Bd.: XIV, 400 p., 3 pl.; III. Qu. XV. Bd.: XII, 415 p., 1 pl.; IV. Qu. XVI. Bd.: 400 p., 1 pl.

V. Jahrg. 1884: I. Qu. XVII. Bd.: XI, 418 p., 4 numb. and 2 unnumb. pl.; II. Qu. XVIII. Bd.: XIII, 400 p.; III. Qu. XIX. Bd.: XIII, 398 p., 4 pl.; IV. Qu. XX. Bd.: XII, 394 p., 4 pl.

VI. Jahrg. 1885: I. Qu. XXI. Bd.: XIV, 392 p., 1 pl., 1 map; II. Qu. XXII. Bd.: XIII, 406 p., 3 pl.; III. Qu. XXIII. Bd.: XI, 374 p., 1 pl.; IV. Qu. XXIV. Bd.: XII, 388 p., 2 pl.

VII. Jahrg. 1886: I. Qu. XXV. Bd.: XVI, 396 p., 3 pl.; II. Qu. XXVI. Bd.: XIII, 360 p., 2 pl.; III. Qu. XXVII. Bd.: XV, 360 p., 2 pl.; IV. Qu. XXVIII. Bd.: XIII, 400 p., 1 pl.

VIII. Jahrg. 1887: I. Qu. XXIX. Bd.: XII, 392 p.; II. Qu. XXX. Bd.: XII, 380 p., 7 pl.; III. Qu. XXXI. Bd.: XII, 404 p., 1 pl. (properly to be signatored I A, misnumbered Bd. XXX, Taf. VIII) and one unnumb. port.; IV. Qu. XXXII. Bd.: XIV, 408 p., 3 pl. (pl. I misnumbered Bd. XXXI, Taf. II).

IX. Jahrg. 1888: I. Qu. XXXIII. Bd.: XIII, 400 p., 1 pl. (title-page mentions two pl., but the publisher's records show that only one was issued with this vol.); II. Qu. XXXIV. Bd.: XIII, 400 p.; III. Qu. XXXV. Bd.: XIII, 398 p.; IV. Qu. XXXVI. Bd.: XIII, 394 p. X. Jahrg. 1889: I. Qu. XXXVII. Bd.: XIII, 424 p., 3 pl.; II. Qu. XXXVIII. Bd.: XIII, p. 425—864; III. Qu. XXXIX. Bd.: XIII, 384 p., 4 pl.; IV. Qu. XL. Bd.: XV, 424 p., 2 pl.

XI. Jahrg. 1890: I. Qu. XLI. Bd.: XV, 416 p.; II. Qu. XLII. Bd.: XIV, 400 p., 1 pl. (numbered Bd. XLII, Taf. I. — Title-page calls for two plates. In fact, no plates belong to this vol.; the one numbered Taf. I belongs to Bd. XLI [vide p. 411]; in some copies of XLII the group of figures on p. 261 are considered as Tab. II [vide p. 356]); III. Qu. XLIII. Bd.: XV, 416 p.; IV. Qu. XLIV. Bd.: XIV, 432 p., 4 pl.

XII. Jahrg. 1891: I. Qu. XLV. Bd.: XIX, 404 p., 3 pl.; II. Qu. XLVI. Bd.: XVIII, 416 p., 4 pl.; III. Qu. XLVII. Bd.: XXIII, 400 p., 2 pl.; IV. Qu. XLVIII. Bd.: XX, 384 p., 2 pl.

XIII. Jahrg. 1892: I. Qu. XLIX. Bd.: XIV, 500 p., 5 pl. (numbered: I, I—IV); II. Qu. L. Bd.: XXIV, 400 p., 1 pl.; III. Qu. LI. Bd.: XXIV, 416 p., 6 pl.; IV. Qu. LII. Bd.: XXXII, 450 p., 1 pl.

XIV. Jahrg. 1893: I. Qu. LIII. Bd.: XX, 416 p., 2 pl.; II. Qu. LIV. Bd.: XXVII, 408 p.; III. Qu. LV. Bd.: XX, 400 p., 3 pl.; IV. Qu. LVI. Bd.: XXIV, 400 p., 1 pl.

XV. Jahrg. 1894: I. Qu. LVII. Bd.: XXIII, 420 p., 3 pl.; II. Qu. LVIII. Bd.: XXVI, 432 p., 1 pl.; III. Qu. LIX. Bd.: XXIII, 404 p. (numbered: I—II; I); IV. Qu. LX. Bd.: XX, 404 p., 2 pl.

Botanisches Centralblatt. 1880 —

- XVI. Jahrg. 1895: I. Qu. LXI. Bd.: XXIII, 468 p., 2 pl.; II. Qu. LXII. Bd.: XXII, 420 p., 2 pl.; III. Qu. LXIII. Bd.: XX, 400 p.; IV. Qu.: XXVIII, 448 p., 4 pl. [numbered I—II, I—II; the last series was published with LXV. Bd., No. 2—3].
- XVII. Jahrg. 1896: I. Qu. LXV. Bd.: XXII, 448 p., 2 pl.; II. Qu. LXVI. Bd.: XXVIII, 416 p., 1 pl.; III. Qu. LXVII. Bd.: XXII, 400 p., 1 pl.; IV. Qu. LXVIII. Bd.: XVII, 432 p., 2 pl.
- XVIII. Jahrg. 1897: I. Qu. LXIX. Bd.: XXIII, 416 p., 2 pl.; II. Qu. LXX. Bd.: XXI, 416 p., 4 pl.; III. Qu. LXXI. Bd.: XXIV, 480 p., 6 pl.; IV. Qu. LXXII. Bd.: XVIII, 432 p., 4 pl.
- XIX. Jahrg. 1898: I. Qu. LXXIII. Bd.: XVI, 480 p., 7 pl.; II. Qu. LXXIV. Bd.: XXII, 384 p., 1 pl.; III. Qu. LXXV. Bd.: XVIII, 420 p., 3 pl.; IV. Qu. LXXVI. Bd.: XVI, 432 p., 5 pl.
- XX. Jahrg. 1899: I. Qu. LXXVII. Bd.: XXV, 448 p.; II. Qu. LXXVIII. Bd.: XX, 400 p., 1 pl.; III. Qu. LXXIX. Bd.: XVII, 416 p., 5 pl.; IV. Qu. LXXX. Bd.: XVIII, 516 p., 7 pl.
- XXI. Jahrg. 1900: I. Qu. LXXXI. Bd.: XVIII, 432 p.; II. Qu. LXXXII. Bd.: XXIII, 416 p., 2 pl.; III. Qu. LXXXIII. Bd.: XVII, 416 p., 3 pl.; IV. Qu. LXXXIV. Bd.: XIX, 416 p., 4 pl.
- XXII. Jahrg. 1901: I. Qu. LXXXV. Bd.: XVIII, 436 p.; II. Qu. LXXXVI. Bd.: XXII, 432 p.; III. Qu. LXXXVII. Bd.: XXII, 448 p.; IV. Qu. LXXXVIII. Bd.: XXII, 424 p.
- XXIII. Jahrg. 1902: I. Halbjahr. LXXXIX. Bd.: XXXIX, 736 p.; II. Halbjahr. XC. Bd.: XLV, 720 p.; XCI. Bd.: 1 l., 266 p.
- XXIV. Jahrg. 1903: I. Halbj. XCH. Bd.: XXXVIII, 608 p.; II. Halbj. XCH. Bd.: XXXIX, 656 p.; XCIV. Bd.: XXIV, 336 p.
- XXV. Jahrg. 1904: I. Halbj. XCV. Bd.: XLIII, 688 p.; II. Halbj. XCVI. Bd.: XL, 656 p.; XCVII. Bd.: XXIII, 288 p.
- XXVI. Jahrg. 1905: I. Halbj. XXXIX, 672 p.; II. Halbj. XCIX. Bd.: XLI, 656 p.; C. Bd.: XXI, 272 p.
- XXVII. Jahrg. 1906: I. Halbj. Bd. 101: XL, 672 p.; II. Halbj. Bd. 102: XXXVIII, 672 p.; Bd. 103: XXI, 256 p.
- XXVIII. Jahrg. 1907: I. Halbj. Bd. 104: XLI, 672 p.; II. Halbj. Bd. 105: XLI, 672 p.; Bd. 106: XXII, 256 p.
- Generalregister über Band I—LX. Hrsg. von Dr. F. Schaumburg. Cassel, Verlag v. Gebr. Gotthelft, 1903.
2 l., 667 p. 8°.

Botanisches Literaturblatt. Organ für Autor- und Instituts-Referate aus dem Gesamtgebiete der botanischen Literatur. Herausgegeben und redig. von Dr. Adolf Wagner . . . Innsbruck, Wagner'sche Universitäts-Buchhandlung, 1903.

Vol. I, 1903. 8°.

No more published.

Herbarium. Organ zur Förderung des Austausches wissenschaftlicher Exsiccationsammlungen. Verlag von Theodor Oswald Weigel in Leipzig.

Nr. 1. 1908 — In progress.

“Erscheint in zwanglosen Zwischenräumen. Auf Wunsch regelmäßige und kostenlose Zusendung.”

International Catalogue of Scientific Literature. 1900 —

Organized in 1900 under the auspices of the Royal Society of London for the purpose of compiling annual lists of publications on the exact sciences. The London Bureau cooperates with national bureaus in other countries.

International Catalogue of Scientific Literature.

In the publications, every larger subject forms a class, which is designated by a letter (e. g. M = Botany). Every class has an annual volume, which contains lists of independently published works and of articles in periodicals, arranged 1) by authors; 2) by subjects. The subjects are arranged according to a fixed system of classification. Every annual issue also contains a list of periodicals whose contents are analyzed therein.

Class M. Botany.

First Annual Issue.

Part I. London, 1902 (May)

XV, 378 p.

Part II. London, 1903 (October)

XIII, 626 p.

Second Annual Issue. London, 1904 (December)

VIII, 1111 p.

Third Annual Issue. London, 1905 (September)

VIII, 909 p.

Fourth Annual Issue. London, 1906 (July)

VIII, 951 p.

Fifth Annual Issue. London, 1908 (March)

VIII, 1210 p.

Some of the national bureaux issue, in addition, lists of their national scientific literature:

Germany.

Bibliographie der Deutschen Naturwissenschaftlichen Literatur. Hrsg. im Auftrage des Reichsamtes des Innern vom Deutschen Bureau der Internationalen Bibliographie in Berlin. 1901 —

Bd. I—IV: Jena, G. Fischer, 1902—1904.

Bd. V —: Berlin, H. Paetel, 1905 —

Continued.

Issued weekly and published at varying intervals. Issues numbered consecutively within each year, forming yearly volumes: I: 1901—02 (1902); II: 1901—02 (1903); III: 1903 (1903); IV: 1904 (1904); V: 1904 (1904); VI: 1905 (1905); VI: 1905 (1905); VII: 1905 (1905) —

France.

Bibliographie scientifique française. Recueil mensuel publié sous les auspices du Ministère de l'Instruction publique par le Bureau française du Catalogue international de la littérature scientifique. Paris, Gauthier-Villars.

Tome I, 1902.

Corresponds in form and arrangement to International catalogue of scientific literature.

Classe M: Botanique:

Tome I. [Année 1902], p. 256—268.

Tome II. Année 1903, p. 128—152.

Tome III. Année 1904—1905, p. 180—196.

Tome IV. Année 1905—1906, p.

Tome V. Année 1906—1907, p.

Poland.

Katalog literatury naukowej polskiej wydawany przez Komisję Bibliograficzną wydziału matematyczno-przyrodniczego Akademii Umiejętności w Krakowie. Tom. I. Rok 1901. Krakow, 1901.

— Tom. II. Rok 1902. Kraków, 1902.

— Tom. III. Rok 1903. Kraków, 1903.

— Tom. IV. Rok 1904. Kraków, 1905.

Each annual volume issued in four parts. M. Botanika.

International Catalogue of Scientific Literature.

Russia.

Akademii nauk. Biuro mezhdunarodnoi bibliografii. St. Petersburg.

Russkaja bibliografija po estestvoznaniju i matematike, sostavlenaja sostojaščim pri Imp. Akademii nauk S.-Peterburgskim bjuro mezhdunarodnoj bibliografii. Tom. I: 1901 Sanktpeterburg, Akad. Nauk, 1904.

M. Botanika: p. 69—89.

Journal de botanique, 1887 —

Journal de botanique. Ed. L. Morot. Paris, . . . J. Lechevalier, 1887 —
I (1887) — In progress.

Each volume has a separately paged appendix: Bulletin bibliographique, which contains a selection of titles of articles in botanical periodicals, besides a few reviews of books. In vol. I—IX, the contents of this Bulletin are arranged under the names of the periodicals, society transactions, etc.; in vol. X et seq., a classified arrangement is followed.

Naturae Novitates. 1879 —

Naturae novitates. Bibliographie neuer Erscheinungen aller Länder auf dem Gebiete der Naturgeschichte und der exacten Wissenschaften. Hrsg. von R. Friedländer & Sohn. Berlin.

Erster Jahrg. 1879 — In progress.

Bi-monthly. Contains classified lists of new publications, independent and periodical. Has numerous index notes, etc., and gives in each number a list of personalia of scientists. Each vol. has classified index.

Progressus rei botanicae. 1907 —

Progressus rei botanicae. Fortschritte der Botanik. Progrès de la botanique. Progress of botany. Herausgegeben von der Association internationale des botanistes. Redigiert von Dr. J. P. Lotsy. Erster Band . . . Jena, Verlag von Gustav Fischer, 1907.

In progress.

Regensburg. Königliche botanische Gesellschaft.

Botanische Zeitung. Hrsg. von der Botanischen Gesellschaft in Regensburg. Jahrgang I—VI. Regensburg, 1802—1807.

Flora oder Allgemeine botanische Zeitung. Hrsg. von der K. Botanischen Gesellschaft in Regensburg. Band I.: Regensburg [alibique], 1818.

In progress.

W. Junk, in his *Rara historico-naturalia et mathematica*, p. 38—40, gives an exhaustive description of these two periodicals, including full collations, for all issues to 1898.

The following literary serials have been published as supplements to *Flora*.

1) *Litteraturblätter für reine und angewandte Botanik. Zur Ergänzung der Flora* hrsg. von der kgl. Botanischen Gesellschaft in Regensburg.

Band I. Jahrgang 1828. Nürnberg, 1828. 578 p.

2) *Botanische Litteraturblätter. Zur Ergänzung . . .*

Band II (II. Jahrgangs 1. Hälfte). Nürnberg, 1829. XII, 442 p.

Band III (II. Jahrgangs 2. Hälfte). Nürnberg, 1829. VI, 443—784 p.

Title-page for II. Jahrgangs 6. Lieferung serves as general title-page.

Band IV (III. Jahrgangs 1. Hälfte). Regensburg, 1830. VIII, 436 p.

Has second title: *Annalen der Gewächskunde*.

Regensburg. Königliche botanische Gesellschaft.

Band V (III. Jahrgangs 2. Hälfte). Regensburg, 1830. V, 437—736 p.

Has second title: *Annalen der Gewächskunde.*

- 3) *Literaturberichte zur Flora oder Allgemeine botanische Zeitung.* Hrsg. von der Königl. Bayer. botanischen Gesellschaft zu Regensburg.

I. Bandes 1. Heft. Nro. 1—11. Regensburg, 1831. VI, 170 p.

I. Bandes 2. Heft. Nro. 12—20. Regensburg, 1831. VI, 171—323 p.

II. Bandes 1. Heft. Nro. 1—10. Regensburg, 1832. VIII, 160 p.

II. Bandes 2. Heft. Nro. 11—18. Regensburg, 1832. VII, 161—288 p.

III. Band. Regensburg, 1833. XII, 240 p.

Literaturberichte zur . . . Zeitung. Im Auftrage der kgl. bayer. botanischen Gesellschaft zu Regensburg hrsg. von Dr. David Heinrich Hoppe und Dr. August Emanuel Fürnrohr.

IV. Band. Regensburg, 1834. VIII, 232 p. (Issued in 15 nos.)

V. Band. Regensburg, 1835. VIII, 192 p. (Issued in 12 nos.)

VI. Band. Regensburg, 1836. VIII, 176 p. (Issued in 11 nos.)

VII. Band. Regensburg, 1837. VIII, 184 p. (Issued in 12 nos.)

VIII. Band. Regensburg, 1838. VIII, 184 p. (Issued in 12 nos.)

IX. Band. Regensburg, 1839. VIII, 200 p. (Issued in 13 nos.)

X. Band. Regensburg, 1840. VI, 186 p. (Issued in 12 nos.)

XI. Band. Regensburg, 1841. VIII, 184 p. (Issued in 12 nos.)

[XII. Band. Regensburg, 1842.] 136 p. (9 nos. issued and the volume left incomplete, lacking title-page.)

- 4) *Repertorium der periodischen botanischen Litteratur.*

This series began in 1864 and continued until 1873, covering the years 1864—1872. It appeared in yearly fascicles (Jahrgang), each issued in installments (Lieferung). The publication of the *Repertorium* does not follow exactly that of the respective years of *Flora*, but overlaps into the subsequent year. Each yearly fascicle of the *Repertorium* has, however, separate title-page and pagination.

I. Jahrgang: 1864. Regensburg, 1864 und 1865. 126 p. (Issued in 5 Liefer.)

II. Jahrgang: 1865. Regensburg, 1865 und 1866. 96 p. (Issued in 4 Liefer.)

III. Jahrgang: 1866. Regensburg, 1866 und 1867. 89 p. (Issued in 3 Liefer.)

IV. Jahrgang: 1867. Regensburg, 1867 und 1868. 80 p. (Issued in 3 Liefer.)

V. Jahrgang: 1868. Regensburg, 1868 und 1869. 64 p. (Issued in 2 Liefer.)

VI. Jahrgang: 1869. Regensburg, 1869 und 1870. 70 p. (Issued in 2 Liefer.)

VII. Jahrgang: 1870. Regensburg, 1870 und 1871. 49 p. (Issued in 2 Liefer.)

VIII. Jahrgang: 1871. Regensburg, 1871 und 1872. 57 p. (Issued in 3 Liefer.)

IX. Jahrgang: 1872. Regensburg, 1872 und 1873. 53 p. (Issued in 3 Liefer.)

Revue générale de botanique, 1889 —

Revue générale de botanique. Ed. Gaston Bonnier. Paris, P. Klincksieck, 1889 —

I (1889) —

Monthly. In progress.

Revue générale de botanique, 1889 —

Each number contains as a standard feature one or more collective reviews of some broad topic. These reviews are analyzed below.

— — Table des dix premiers volumes.

(In vol. X (1899), p. 567—580.)

Repertorium annum literaturæ botanicæ periodicæ.

Harlemi, E. Loosjes, 1873—1886.

Tom. I—VIII. 8°.

Tom. I: 1872 (1873). — 1 l., XVI, 223 p.

Ed. by J. A. van Bemmelen.

Tom. II: 1873 (1876). — 2 l., XX, 200 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg and W. Burck.

Tom. III: 1874 (1877). — 2 l., XXII, 271 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg and W. Burck.

Tom. IV: 1875 (1878). — 2 l., XXIV, 283 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg and W. Burck.

Tom. V: 1876 (1879). — 1 l., XXIV, 328 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg and W. Burck.

Tom. VI: 1877 (1881). — 1 l., XXVI, 420 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg.

Tom. VII: 1878 (1883). — XXX, 532 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg.

Tom. VIII: 1879 (1884). — XXXII, 741 p.

Ed. by G. C. W. Bohnensieg.

Societatum litteraræ.

Societatum litteraræ. Verzeichniss der in den Publikationen der Akademien und Vereine aller Länder erschienenen Einzelarbeiten auf dem Gebiete der Naturwissenschaften . . . Im Auftrage des Naturwissenschaftlichen Vereins f. d. Regbez. Frankfurt a. O. herausgegeben . . . Berlin, 1888—1900.

Vol. 1—14: 1888—1900.

Sub-titles in English and French.

Editors: 1—4: Ernst Huth; 5—6: E. Huth and Arthur Hering;

7: E. Huth and Max Klittke; 8—14: M. Klittke.

2a. Collective Indexes to Periodicals.

Reuss, J. D.

Repertorium commentationum a societatibus litterariis editarum secundum disciplinarum ordinem. Goettingæ. Dietrich, 1801—1821.

Tom. I—XVI.

Tom. II. Botanica et Mineralogia.

Classified index of periodical literature. For publications of the eighteenth century this work occupies in many respects a position adequate to that which the Catalogue of scientific papers (Roy. Soc., London) holds in regard to scientific periodical literature of the following century.

Average price $\pm$ 40 Mk. Vols. I—II quoted in 1900 at 2½ Mk.!

Catalogue of Scientific Papers. Covers period 1800—1883.

Catalogue of scientific papers . . . compiled by the Royal Society of London. London, C. J. Clay and Sons, 1867—1902.

Catalogue of Scientific Papers. Covers period 1800—1883.

I—XII. 4to.

I—VI: 1800—1863.

VII—VIII: 1864—1883.

XII: Supplement for 1800—1883.

— — Subject index. Cambridge, University Press, 1908 —

In progress.

Deniker, Joseph.

Bibliographie des travaux scientifiques (sciences mathématiques, physiques et naturelles) publiés par les sociétés savantes de la France. Dressée sous les auspices du Ministère de l'instruction publique. Paris, Imprimerie nationale, 1895—1897.

Tom. I. Livraison 1: 1895; livr. 2: 1897.

III, 400 p. 4to. [Title-page not issued.]

No more published.

Schmidt, Carl.

Synchronostische Tabellen über die naturwissenschaftliche Journallitteratur von 1650—1893.

(Schriften hrsg. von der Naturforscher-Gesellschaft bei der Universität Jurjew. VIII (1895). Sep., Leipzig, K. F. Koehler; Dorpat (E. J. Karow), 1895. — X, 63 p. 4to.

3. General and Comprehensive Bibliographies.

Adanson, Michel.

Familles des plantes. Paris, Vincent, 1763.

v. I—II. 8°.

Vol. I, p. I—CCCXXV: "Préface Istorike sur l'état ancien & actuel de la Botanique"; — p. 1—30: "Table cronologike des Auteurs de Botanique".

The "table cronologike" is arranged in columns bearing the following superscriptions: Noms des Auteurs; Leur patrie; Leurs ouvrages; Nombre des plantes qu'ils ont décrit ou figuré; Années où leurs ouvrages ont paru; Années de leur naissance; Années de leur mort; Durée de leur vie.

Histoire de la botanique et plan des familles naturelles des plantes. Deuxième édition préparée par l'auteur, publiée sur ses manuscrits par Alexandre Adanson et J. Payer. Paris, Masson et fils, Imprimée en 1847, Publiée en 1864.

V, 300 p., 1 pl. 8°.

Baldinger, Ernst Gottfried.

Ueber Litteraturgeschichte der theoretischen und praktischen Botanik. Marburg, Akad. Buchhandlung, 1794.

8, 117 p.

Indifferent.

Beckmann, Johan.

Physikalisch-ökonomische Bibliothek, worinn von den neuesten Büchern, welche die Naturgeschichte, Naturlehre und die Land- und Stadtwirthschaft betreffen, zuverlässige und vollständige Nachrichten, ertheilet werden. Göttingen, 1770—1806.

Beckmann, Johan.

Band I—XXIII. 1770—1806.

23 v. 12 mo.

The annual volumes were originally issued in each four parts, each of which has separate title-page. — Contains exhaustive descriptions and reviews of many important botanical works.

Bischoff, Gottlieb Wilhelm.

Lehrbuch der Botanik. Stuttgart, Schweizerbart, 1834—1840.

Bd. I (1834). Bd. II: Theil 1 (1836); Theil 2 (1839). Bd. III: Theil 1 (1840); Theil 2 (1840). Anhang (1839).

Issued as *Naturgeschichte der drei Reiche*, hrsg. v. Bischoff et al., Bd. IV—VI.

Bd. II, Th. 2, p. 418—810: Von der Entstehung der wissenschaftlichen Pflanzenkunde und ihren Fortschritten bis auf unsere Zeit. *Geschichte der Botanik.* — A very good conspectus, with useful book lists.

Bobart, Jacob, fl. 1715.

[Edited Robert Morison, *Plantarum historiae universalis Oxoniensis pars tertia, Oxonii, 1699*, the preface containing a list of botanical authors from Theophrast to date of issue.]

Boehmer, Georg Rudolph.

Bibliotheca scriptorum historiae naturalis, oeconomiae aliarumque artium ac scientiarum ad illam pertinentium realis systematica. Lipsiae, 1785—1789.

Partes I—IV, in 9 vol. 8°.

Pars I: *Scriptores generales*: vol. I (1785); XVIII, 778 p; vol. II (1786); 772 p. — Pars II: *Zoologi*: vol. I (1786); 604 p; vol. II (1786); 536 p. — Pars III: *Phytologi*: vol. I (1787); 808 p; vol. II (1787); 642 p. — Pars IV: *Mineralogi*: vol. I (1788); 510 p; vol. II (1789); 412 p. — Pars V: *Hydrologi*. *Accedit index universalis.* (1789); 740 p.

Buhle, J. Th.

Sur les ouvrages qui nous restent des Grecs sur l'histoire naturelle.

(In *Mém. Soc. Nat. de Moscou* I, p. 229—246.)

Choulant, Johann Ludwig.

Handbuch der Bücherkunde für die ältere Medicin zur Kenntniss der griechischen, lateinischen und arabischen Schriften im ärztlichen Fache und zur bibliographischen Unterscheidung ihrer verschiedenen Ausgaben, Uebersetzungen und Erläuterungen, von Dr. Ludwig Choulant. Zweite durchaus umgearbeitete und stark vermehrte Auflage. Leipzig, Verlag von Leopold Voss, 1841.

XXI, 434, [1] p. 8°.

Graphische Inennabeln für Naturgeschichte und Medicin. Enthaltend Geschichte und Bibliographie der ersten naturhistorischen und medicinischen Drucke des XV. und XVI. Jahrhunderts, welche mit illustrirenden Abbildungen versehen sind. Nebst Nachträgen zu des Verfassers Geschichte und Bibliographie der anatomischen Abbildung. Leipzig . . . 1852 . . . Von Dr. Ludwig Choulant. Leipzig, Rudolph Weigel, 1858.

XX, 168 p. 8°.

Reprint of: *Botanische und anatomische Abbildungen des Mittelalters* (In *Archiv für die zeichnende Künste mit besonderer Beziehung auf Kupferstecher- und Holzschnidekunst und ihre Geschichte.* Hrsg. von R. Naumann. Jahrg. 3 (1857), p. 188—346.)

Choulant, Johann Ludwig.

These two works by Choulant are yet the chief source of information concerning early botanical and medico-botanical literature, incunabula, and the illustrations contained therein. The descriptions of this class of literature are models of correctness and care. "... Der bei weitem grösste Theil beruht auf eigener Ansicht"; and even Hain is adduced only where he describes a piece actually before him.

Cozzi, C.

La flora orientale e la bibbia; appunti bibliografici.

(In Rev. fis., mat., sci nat. Pavia, VIII (1903), p. 45—52.)

Dahl, Ove Christian.

Biskop Gunnerus's virksomhed fornemmelig som botaniker tilligemed en oversigt over botanikens tilstand i Danmark og Norge indtil hans død. (Det kgl. Norske Videnskabernes Selskabs Skrifter. 1888—90. (1892), p. 102—153.)

Kap. 1. Botanikens tilstand i Danmark og Norge indtil 1750: p. 106—140. — Kap. 2. Topografisk literatur indeholdende meddelelser om norske naturalier indtil 1750: p. 140—223. — Kap. 3. Botanikens tilstand i Danmark fra Linnés tid indtil Martin Vahl: p. 223—244.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1891. (1893), p. 1—152.)

Kap. 4. Johan Ernst Gunnerus: p. 1—93. — Tillæg I. Gunnerus' botaniseringen . . . A—B.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1892. (1893), p. 1—61.)

Kap. 4, Tillæg I [continued]: C—D.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1893. (1894), p. 22—74.)

Kap. 4, Tillæg I [continued]: E—H.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1895. (1896), p. 11—224.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag af Gunnerus' brevveksling, særlig til belysning af hans videnskabelige sysler. [Hefte 1.]

— — [Continuation.]

(Ibid., 1896. Nr. 4. (1897.) — 91 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 2.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1897. No. 4. (1897.) — 80 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 3.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1898. No. 4. (1898.) — 81 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 4.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1899. No. 4. (1899.) — 64 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 5.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1900. No. 4. (1900.) — 96 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 6.

— — [Continuation.]

(Ibid., 1902. No. 4. (1903.) — 99 p.)

Kap. 4, Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 7.

Dahl, Ove Christian.

The collation of this important work is rendered difficult in that in 1897 the author decided to regard the portion published in the *Skrifter* 1888—90 (i. e., Kap. 1—3) as main chapter I; the portion published in the *Skrifter* 1891, 1892 and 1893 (i. e., Kap. 4 and *Tillæg* I (A—H)) as main chapter II; and the remainder (i. e. *Tillæg* II) as main chapter III. Hence, after the instalments, in 1897 (*Skrifter*. 1896) were given separate title-pages, these bear the sub-title: III. Johan Ernst Gunnerus. *Tillæg* II. *Uddrag* ... Hefte 2 [and 3, 4, 5, 6, 7]. — Detailed tables of contents are given in the *Skrifter*. 1888—90. (1892), p. 252—253; and *Skr.* 1898. No. 4. (1898), p. 82—83. The last of these tables, then, is the one intended as conclusive for main divisions of the work.

While the main importance of this monumental study lies elsewhere, the introductory chapters as well as the letters (*Tillæg* 2 contains 809 numbered letters) contain many data bearing upon the botanical literature of the period preceding 1773, the year of Gunnerus' death.

Dierbach, Johann Heinrich.

Repertorium botanicum, oder Versuch einer systematischen Darstellung der neuesten Leistungen im ganzen Umfang der Pflanzenkunde. Lemgo, Meyer, 1831.

X, 266 p. 8°.

Flora Apiciana. Ein Beitrag zur näheren Kenntniss der Nahrungsmittel der alten Römer, mit besonderer Rücksicht auf die Bücher des Caelius Apicius de opsoniis et condimentis sive arte coquinaria. Heidelberg, 1831.

VIII, 75 p. 8°.

Flora mythologica, oder Pflanzenkunde in Bezug auf Mythologie und Symbolik der Griechen und Römer. Ein Beitrag zur ältesten Geschichte der Botanik, Agricultur und Medicin. Frankfurt a. M., Sauerländer, 1833.

X, 218 p. 8°.

French translation, Dijon, 1867.

Dufour, Léon.

Revue des travaux divers de botanique.

(In *Rev. gén. de bot.* X (1898), p. 200—214.)

Contents: I. Botanique historique et philosophique. — II. Botanique pittoresque. — III. Botanique agricole. — IV. Botanique médicale et pharmaceutique. — V. Variétés et ouvrages généraux.

Fée, Antoine Laurent Apollinaire.

Flore de Virgile, ou nomenclature méthodique et critique des plantes, fruits et produits végétaux mentionnés dans les ouvrages du prince des poètes latins; travail inséré dans le tome VIII (p. 429—460) de Virgile dans la collection des classiques dédiée au roi. Paris, typ. Didot, 1822.

252 p., 1 pl. 8°.

Flore de Théocrite et des autres bucoliques grecs. Paris, Firmin-Didot, 1832.

XVI, 118 p. 8°.

Fibig, J., and Nau, B.

Bibliothek der gesammten Naturgeschichte. Frankfurt und Mainz, bei Varrentrapp und Wenner, 1790—1791.

Bd. I—II. 12mo.

Bd. I (1790): XII, 742 p.; II (1791): 2 l., 748 p.

Fibig, J., and Nau, B.

The volumes were originally published in each four parts ("Stücken"), each of which has separate title-page with date. — This publication was planned to bring reviews of the more important books in natural history, beginning with the year 1788, including some of 1787. — An excellent series of critical reviews, giving a number of data (collations, etc.) of bibliographical and historical interest.

Gesner, Conrad.

Conradi Gesneri Medici Tigurini ad rei medicae studiosus praefatio in libros de natura stirpium Hieronymi Tragi, in qua enumerantur qui de plantis quovis modo in hunc usque diem aliquid literis prodiderunt.

(In Hieronymi Tragi De stirpium . . . libri tres. Argentorati 1552, p. [19]—[49].)

Haller, Albrecht von.

Kurze critische Historie aller der botanischen Holz- und Kupferstiche, die in Deutschland herausgegeben sind, oder doch von deutschen Kräuter-Kennern herkommen.

(Published as an introduction (9 l.) to J. G. Weinmann: Phytanthozaiconographia, Ratisbonae, per H. Lenzium (1737—1745), in vol. IV (1745)).

Not exhaustive, but contains only titles of works in Haller's own library.

Bibliotheca botanica. Qua scripta ad rem herbariam facientia a rerum initiis recensentur. Tiguri, apud Orell, Gessner, Fuessli, et soc., 1771—1772.

Vol. I: XVI, 654 p., l.; vol. II: 785 p.

Classified; chronological. Copious annotations. Brief entries. Covers pure and applied botany. Contains a great wealth of information and is of permanent value, as its natural successor Pritzel's Thesaurus limits its scope considerably in proportion. While indispensable for the period previous to its date of publication it should be used but with constant reference to the large list of addenda (II, p. 618—711: Addenda for both vols.) and to the numerous misprints in the index. Addenda noted in Index.

Price: Usually (1880—1905) Mk. 4to 6, but in 1905 several dealers began to quote higher price, one even Mk. 24.

— — Londini, Prostant apud Carol. Heydinger, Bibliopol., in vico vulgo Strand dicto (No. 274), 1771—1772.

Identical with foregoing, and made up from original signatures with the exception of the following portions, which have been reprinted: Vol. I, Dedication, p. [V]—VIII; vol. II: praefatio, p. 3—4; also title-page in both volumes.

Bibliotheca botanica auctore Alberto von Haller. Index emendatus perfecit J. Christian Bay. Ad diem natalem Albrechti Halleri ante hos ducentos annos Bernae nati celebrandum die XVI mensis Octobris anni MDCCCVIII edidit Societas Bernensis Rerum Naturae Peritorum.

3 l., 57 p. 4to.

Supplements:

Kall, Abraham.

Supplementum ad Bibliothecam Botanicam Alb. Halleri. Programma . . . ad promotionem P. Thorstensen. Hafniae 1775.

21 p. 8º.

Murr, C. T. von.

Adnotationes ad bibliothecas hallerianas, botanicam . . . Erlangae 1805.

67 p. 4to.

Högrell, B.

Botanikens historia i öfversigt. Göteborg, tryckt hos H. L. Bolinder, 1886.
VIII, 304 p. 8°.

Supplement:

Botaniken i Holland i 19: de. seklet.

(In Botan. Notiser 1888, p. 204—208. — Sep., with orig. pagin.)

The only modern history of the whole subject. Quite condensed, but very comprehensive, and contains brief titles of nearly all important botanical works.

Hübener, J. W. P.

Beiträge zur Geschichte und Litteratur der Botanik.

(In Flora, Jahrg. XXII (1839), Bd. II, p. 465—476, 481—488.) Bibliographical notes on Rosenbach, Alsted, Katharina Dörrien, and Leers.

Jackson, Benjamin Daydon.

Guide to the literature of botany, being a classified selection of botanical works, including nearly 6000 titles not given in Pritzel's 'Thesaurus'. London, Published for the Index Society by Longmans, Green & Co. ., 1881.

XL, 626 p. sm. 4to.

(Index Society. Publications. VIII.)

Contains some 9000 short entries, including some corrections and emendations to Pritzel. Does not pretend bibliographical completeness, nor fullness as for subject, but is an excellent selection.

Junk, W.

Rara historico-naturalia et mathematica. [Berlin, 1903—1908.]

Partes I—XVII.

A series of bibliographical papers, paged continuously: 1—88. Originally published (partes I—XIV) in *Laboratorium und Museum*, and (partes XV—XII) in its continuation, *Bibliographische Zeitschrift für Naturwissenschaften*.

Pars IV = p. 13—20: Botanica; pars VIII = p. 37—40: Botanica (Die Anfänge der botanischen Zeitschriften-Litteratur); pars IX = p. 41—44: Botanica; pars XII = p. 53—60: C. a Linné; pars XIII = p. 61—68: Botanica.

Gives detailed collations and descriptive notes for a number of important botanical publications.

Krüger, Marcus Salomon.

Bibliographia botanica. Handbuch der botanischen Literatur in systematischer Ordnung nebst kurzen biographischen Notizen über die botanischen Schriftsteller. Berlin, Haude und Spener, 1841.

VI, 464 p. 8°.

Very unsatisfactory, but better than its reputation.

Lenz, Harald Othmar.

Botanik der alten Griechen und Römer, deutsch in Auszügen aus deren Schriften nebst Anmerkungen. Gotha, Thienemann, 1859.

VIII, 776 p. 8°.

Linné, Carl von.

Philosophia botanica . . . Stockholmiae, 1751.

P. 2—17: "Bibliotheca". — A very condensed exposition of botanical literature, giving authors and dates, but not titles, in tabulated form. — There are several later editions, the best probably the one edited by Curt Sprengel, Halae, 1809 and Tornaci Nerviorum, 1824.

Linné, Carl von.

Bibliotheca botanica, recensens libros plus mille de plantis hucusque editos secundum systema auctorum naturale in classes, ordines, genera et species dispositos, additis editionis loco, tempore, forma, lingua, etc., cum explicatione fundamentorum botanicorum pars I. Amsterlodami, S. Schouten, 1736.

153, 29 p. 8°.

— — Editio nova, Halae, Bierwirth, 1747. 8°; editio altera priori longe auctior et emendatio. Amsterlodami, Schouten, 1751 (XIV, 220 p. 8°.

— Petzholdt notes that some copies bear the date 1753). The last of these naturally is the best edition considering that the materials for the 1736 edition were collected by way of a first attempt.

Auctores botanici quos sub praesidio Car. Linnaei proposuit Augustinus Loo. Upsaliae, 1759. Martii 14.

20, 2 p. 4to.

Republished in his *Amoenitates academicae* V (1760) p. 273—297; also in his *Fundamenta botanica*, curante J. E. Gilibert, Coloniae Allobrogum, 1786, vol. I, p. 85—112.

A short list of authors and their principal works, followed by classified arrangements.

Meyer, Ernst H. F.

Geschichte der Botanik. Erster — Vierter Band. Königsberg, Gebr. Bornträger, 1854—1857.

4 vols. 12mo.

Intended to cover all times and countries, but remained unfinished after the author's death. The four volumes published cover the botany of the ancients, of the middle ages and of modern times till about the end of the sixteenth century. Manuscripts and printed books described with exactness. The work is a testimony of profound scholarship.

Each volume has separate index.

Miltitz, Friedrich von.

Bibliotheca botanica secundum botanices partes, locos, chronologiam, formam, auctores, volumen, titulos, pretium et recensiones, concinnata auctore Friederico a Miltitz. Praefatus est Ludovicus Reichenbach. Beroлина, Rücker, 1829.

VIII, 544 p. [= col.]. 8°.

Now of scant value.

Montalbani, Ovidio.

Bibliotheca botanica, seu herbaristarum scriptorum promota synodia; cui accessit individualis graminum omnium ab auctoribus hucusque observatorum numerosissima nomenclatura. Bononiae, typ. her. Benatii, 1657.

188 p. 12mo.

— — Primum Bononiae . . . nunc iterum edita. Hagae Comitum, Neaulme, 1740.

66 p. 4to.

(A republication, with Séguier, J. F. *Bibliotheca botanica*.)

The first edition I have not seen; it is very scarce. Pritzel and Petzholdt probably saw the Berlin copy. — Confer Malpighi, Marc.: *Opera posthuma*, Lond. 1697, p. 161 seq. (Petzholdt, p. 553. — Krüger, *Bibliogr. bot.*, 1841, p. 1.)

Müller, Johann Traugott.

Einleitung in die oekonomische und physikalische Bücherkunde und in die damit verbundenen Wissenschaften bis auf die neuesten Zeiten. Leipzig, Schwickert, 1780—1784.

Band I—II, Abth. 1—2. 8°.

Bd. I: 8 l., 560 p.; Bd. II, Abth. 1: 1 l., VIII, 718 p.; Bd. II, Abth. 2: 2 l., IV, 743 p.

Vol. I contains the enumeration of publications; vol. II, the critical annotations. — An informal continuation of the Hausvater; see Münchhausen, Otto Freiherr von.

[Münchhausen, Otto Freiherr von.]

Des Hausvaters zweiten Theils Stck. 1. Inhalt: Des Hausvaters botanische . . . Bibliothek. 1. Vorbericht . . . 2. Eintheilung der oekonomischen Bibliothek. 3. Verzeichniz der vornehmsten botanischen . . . Werke. II. vermehrte und ganz umgearb. Auflage. — Stck. 2. Inhalt . . . Hannover, Helwing, 1774—1775.

XLVIII, 976 p. 8°.

(First ed., 1765.) Annotation valuable.

Potonié, Henry.

Aufzählung von Gelehrten, die in der Zeit von Lamerck bis Darwin sich im Sinne der Descendenz-Theorie geäußert haben, mit Bevorzugung der Botaniker.

(In Oesterr. bot. Zeitschr. XXXI (1881), p. 315—322, 352—357.)

Pritzel, Georg August.

Thesaurus literaturae botanicae omnium gentium inde a rerum botanicarum initiis ad nostra usque tempora, quindecim millia operum recensens. Lipsiae: F. A. Brockhaus, 1851.

VIII, 547 p. 4to.

The scope of this edition is wider than that of the second, and includes a number of works verging toward horti- and agriculture. Both editions should be used together.

The author acknowledged (2. ed., p. 23) the additions proposed by E. von Berg ("quibus diligenter usus sum"), but not those given by E. A. Zuchold.

Supplements:

Berg, Ernst von.

Index librorum botanicorum bibliothecae Horti imperialis botanici Petropolitani quorum inscriptiones in G. A. Pritzelii Thesauro literaturae botanicae et in Additamentis ad Thesaurum illum ab Ernesto Amando Zuchold editis desiderantur.

(In Zeitschr. für die gesammten Naturwiss., hrsg. von dem Naturwiss. Ver. für Sachsen und Thüringen in Halle. Redig. von C. Giebel und W. Heintz, XII (Berlin, 1858), p. 207—244. Also separate, with sep. t.-p. and pagin. 1—40: Halis, typ. Ploetzianis, 1859. 8°.)

— II. Petropoli, typ. Acad. Caesar. Scient. 1862.

21 p. 8°.

— III. Ibidem, 1864.

69 p. 8°.

Zuchold, E. A.

Additamenta ad Georgii Augusti Pritzelii Thesaurum literaturae botanicae collegit et composuit Ernestus Amandus Zuchold.

Zuchold, E. A.

(In Jahresber. des naturwiss. Vereines in Halle, V, (1853.) — Separate, with sep. pagin.: Halis, typ. Ploetizianis (Lipsiae, T. O. Weigel), [1853]. 60 p. 8°.

Catalogus librorum in Pritzelii Thesauri omissorum, quos Societati Halensi naturae curiosorum offert E. A. Zuchold.

(In Abhandl. der naturforsch. Gesellschaft zu Halle II: 1854 (1855), p. 67—74.)

Thesaurus literaturae botanicae omnium gentium inde a rerum botanicarum initiis ad nostra usque tempora, quindecim millia operum recensens. Editionem novam reformatam curavit G. A. P. Lipsiae, G. A. Brockhaus, 1872[—1877.]

3 l., 576 p., 1 l. 4to.

Contents: List of works, alphabetical by authors (p. 1—356); Addenda [to this], p. 356—360; Anonyma et periodica, p. 360—368; Literaturae botanicae thesauri pars systematica, p. 369—540; Index auctorum, p. 541—568; Index librorum anonymorum, p. 569—573. — Corrigenda — Index [systematicus partis secundae], p. 575—576. — Epilogus [scripsit Carolus Jessen], p. [577].

The first part was dated Oct. 1871, the second, Mar. 1877. The second part, left incomplete by P. at his death, was edited and completed by C. Jessen.

Contains only books independently published. Without comparison the most comprehensive and accurate work in its field.

Stein (Man. de bibliogr. gén., 1897, p. 153), in citing this work and B. D. Jackson's Guide (1881), makes the following curious and misleading assertion: "Ces deux ouvrages rendent inutiles les publications autrefois célèbres de J. F. Séguier (1760) et d'A. von Haller (1772) et deviendront à leur tour inutiles quand paraîtra la grande bibliographie botanique que prépare l'American Association for the Advancement of Science." Leaving alone the absurdity of one publication rendering others, in the same field, useless, except by formal or informal absorption, it is not known that the A. A. A. S. ever has projected any bibliography of botany.

Supplements: Jackson, B. D., q. v.

Kuntze, Otto.

Notizen zu Pritzel's Thesaurus literaturae botanicae.

(In his Revisio generum plantarum I (1891), p. CXXII—CXLVI.)

Gives bibliographical data of historico-taxonomic importance for a number of works in descriptive botany.

Reichard, J. Jac.

Sylloge opusculorum botanicorum, cum adjectis annotationibus. Pars I. Francofurti a. M., apud Varrentrapp fil. & Wenner, 1782.

182 p. 8°.

Rohr, Julius Bernhard von.

Julius Bernhard von Rohr, Physikalische Bibliothek worinnen die vornehmsten Schriften die zur Naturlehre gehören, angezeigt werden, mit vielen Zusätzen und Verbesserungen hrsg. von Abraham Gotthelf Kästner. Leipzig, Wendler, 1754.

15 l., 724 p.

Kap. 10: Von dem Reiche der Gewächse. — The first ed. (1724) of no value. Kästner's edition is valuable mainly on account of its erudite annotation.

Römer, Heinrich.

Bibliotheca botanica.

Manuscript.

In Botan. Zeitung 1831, col. 536—538 Count Henckel von Donnersmark made the following communication:

“In dem reichhaltigen 29sten. Verzeichnisse des Antiquariats von Franz Hanke zu Zürich in der Schweiz werden Seite 183 aufgeführt:

„No. 5831. Römer, H.““

„No. 5832. Bibliotheca botanica (deutlich geschrieben. Manuscript), circa 700 Bogen Median-Fol., von Ursprung der Wissenschaft bis Ende 1839. Systemat. geordnet. — Außerdem sind noch 10 Quartbände verschiedene Materialien, Register, etc., dabei.“

“Der vorstehenden Anpreisung bedurfte es eben nicht um mich zu dem Ankauf von Nr. 5832 zu bestimmen; zu deren Vervollständigung das Antiquariat noch mehrere Bände, einzelne Hefte, lose Blätter und Notizen in allen Formaten enthaltend, nachgeliefert hat. Dagegen dürfte es nach näherer Durchsicht des Manuscripts und seiner Nachträge gewiss nur eine gerechte Anerkennung des gleich umsichtigen, sachkundigen und unermüdlichen Fleisses seines Verfassers sein, wenn das Ganze als ein wahrer Schatz für botanische Bücherkunde bezeichnet wird, dessen Besitz Nichts zu wünschen übrig liesse, fehlte nicht leider der ganze vierte Band. Ob er jemals vorhanden gewesen? — oder erst aus den vorerwähnten Nachträgen hätte zusammengestellt werden sollen? — das vermag man mit Sicherheit weder zu bejahen, noch zu verneinen; zumal diese Nachträge noch eine fast unübersehbare Menge von einzelnen Büchertiteln, Bemerkungen und Notizen aller Art liefern, die sich nicht blos auf den fehlenden Schluss der Monographien-Literatur beziehen. Bei diesen Nachträgen scheint ohnehin die Absicht vorgewaltet zu haben, die gesammte botanische Literatur über das Jahr 1839 hinauszuführen, denn die neuesten der darin namhaft gemachten Schriften sind im Jahre 1843 und selbst theilweise im Jahre 1844 erschienen. Auch schliesst das Sachregister zum X. Bande mit den Worten: “Beendet im Mai 1839. Mit dem Hauptkatalog verglichen im April 1841.” Eben so ungewiss bleibt man darüber, ob der Verfasser jemals beabsichtigt habe, seine in ihrer Art wohl einzige Arbeit durch den Druck zu veröffentlichen? — wenn gleich allerdings durch die Menge und Mannigfaltigkeit der angelegten systematischen, alphabetischen und chronologischen Register und Nachweisungen dies nicht unwahrscheinlich wird. Um den inneren Werth des umfangreichen Ganzen anschaulich zu machen, würde es hinreichen die Ueberschriften der Abtheilungen und Unterabtheilungen herzusetzen, in welche irgend einer der geschlossenen Bände zerfällt. Wir bedauern, dass der Raum dieser Zeitung dies nicht gestattet, zumal diese Rubriken, ächt systematisch, die bekannten Gliederungen der Erschenschen Handbücher, an Genauigkeit und Schärfe, wo möglich noch übertreffen. Demnach begnügen wir uns mit dem Bemerken, daß abgesehen von den Nachträgen, das Werk selbst aus zehn Bänden im grössten Folioformate besteht. Ein jeder dieser Bände hat ein besonderes Titelblatt, mit der allgemeinen Ueberschrift:

Römer, Heinrich.

Repertorium der Botanik. — Vom Ursprung der Wissenschaft bis Ende 1839. Die besonderen Ueberschriften lauten bei Band I. „Enthält: Elementa. — Zeit- und Gesellschaftsschriften. — Sammlungen. — Herbarien. — Archaeologie. — Geschichte der Botanik. — Literatur. — Biographien. — Pflanzenhandel. — Tauschhandel. — Museen. — Ausstellungen. — Reden. — Briefe. — Gesellschaftsberichte.“

Band II. Enthält: Systemkunde. — Monographien.

Band III. Enthält: Monographien.

Band V. Enthält: Phytographie.

Band VI. Enthält: Gärten.

Band VII. Enthält: Floren (Asien. Africa. America. Australien).

Band VIII. Enthält: Floren (Europa).

Band IX. Enthält: Floren der Vorwelt. — Reisen.

Band X. Enthält: Physiologie.

Band XI. Autoren-Verzeichniss über alle zehn Bände des Repertoriums nebst kurzen biographischen Notizen.

“Von diesen zehn Bänden sind vier förmlich eingebunden; diesen hat der Buchbinder auf dem Rücken des Einbandes den Titel verliehen: Bibliotheca botanica. Die übrigen Bände entbehren zur Zeit alles Einbandes und liegen besonders verpackt bei einander. Die einzelnen Bände sind an Stärke ungleich und bestehen aus packpapiernen Bogen. Auf jeder Seite eines solchen Bogens laufen von oben bis unten zwei Reihen aufgeklebter Zettel. Diese Zettel bilden den eigentlichen Text dieses “Opus tessellatum”. Sie enthalten, mit bibliographischer Genauigkeit, die ausführlichen Titel der betreffenden Werke, Schriften, einzelner Abhandlungen und Aufsätze nach systematischer und chronologischer Ordnung. Oft sind dabei die Recensionen mit nachgewiesen und in einzelnen Fällen selbst gedruckte Büchertitel mit aufgeklebt. Die Handschrift, ohne gerade schön zu sein, ist vollkommen leserlich. Auf wie hoch nun die Anzahl der einzelnen bereits eingereihten Zettel sich beläuft, darüber soll das Erforderliche gesagt werden, wenn es mir vergönnt sein wird, über die persönlichen Verhältnisse des Herrn Heinrich Römer's einige zuverlässige Nachrichten beizubringen.”

Count Henckel made, however, no further communication on this subject, except, incidentally, in his paper “Ueber botanische Bücherkunde” (vide sub Henckel), to which was appended that portion of Römer's manuscripts containing the list of publications on *Crocus*. The work as viewed in the light of this fragment, must indeed be one of extraordinary merits.

Since 1861, the year of Count Henckel's death, the manuscripts have rested in a place unknown, — if, indeed, they have been at all preserved. The Count's library was scattered among his friends, and no definite portions thereof were retained at any of the estates of the family. At the instance of the compiler of this bibliography, a diligent search is now being made to the end of recovering Heinrich Römer's manuscripts.

Scheuchzer, J. J.

Bibliotheca scriptorum historiæ naturali omnium terræ regionum inservientium. Historiæ naturalis Helvetiæ prodromus. Accessit . . . Jacobi de Long . . . de scriptoribus historiæ naturalis Galliæ. Tiguri, typis Henrici Bodmeri, 1716.

5 l. (numb.), 2 l. (unnumb.), 241 p. 12mo.

Bibliotheca . . . Accessit . . . Tiguri, typis Heideggeri & sc., 1751.

5 l. (numb.), 2 l. (unnumb.), 241 p. 12mo.

"P. [I—XIV] et pag. ult. tantum reimpressæ sunt, sed p. 1 ad 240 idem cum ed. anni 1716 typus."

Schlegel, Paul Marquard, 1605—1653.

Programma de electioribus rei herbariæ scriptoribus, hortisque medicis potioribus. Jenæ, 1639.

8 p. 4to.

Schultes, Joseph August.

Grundriss einer Geschichte und Literatur der Botanik von Theophrastos Eresios bis auf die neuesten Zeiten, nebst einer Geschichte der botanischen Gärten . . . Wien, Schaumburg & Co., 1817.

XVI, 411 p., 1 l.

Added t.-p.: Anleitung zum gründlichen Studium der Botanik. — p. 1—41: Quellen zur Geschichte und Literatur der Botanik.

Vollständiges Register . . ., von J. Schultes. Mit einem Vorworte von L. Radlkofer. München, Th. Ackermann, 1871.

60 p. 8º.

For corrections and additions to this book see J. F. Schouw, in Flora, 1825, Dritte Beilage, p. 98—109. They concern especially Danish and Norwegian botanical literature.

Seguier, J. F.

Bibliotheca botanica, sive Catalogus auctorum et librorum omnium qui de re botanica, de medicamentis ex vegetabilibus paratis, de re rustica, & de horticultura tractant. Accessit Bibliotheca botanica Jo. Ant. Bumaldi, seu potius Ovidii Montalbani Bononiensis. Hagæ Comitum, Neaulme, 1740.

16 + 450 + 66 p. 4to.

Bibliothecæ botanicae, quæ prodiit Hagæ Comitum anno 1740, supplementum.

(With his Plantae veronenses. Veronæ, 1745, vol. II. Reissued as follows):

Auctuarium in Bibliothecam botanicam, antehac a clariss. viro botanico eximio D. D. Joanne Francisco Seguieris conscriptam et editam, prolatum a Laur. Theod. Gronovio. Lugd. Batav., C. Haak, 1740.

[2], 65, [7] p. 4to.

(Almost always with the following):

Bibliotheca botanica . . . Lugd. Batav., C. Haak, 1760.

This is a title-edition of the 1740 edition, with the above mentioned supplement bound in. — An excellent bibliography, more limited in its scope than Haller's, but more carefully edited.

Sprengel, Kurt.

Historia rei herbariæ. Amsterlodami . . . Leipzig, Brockhaus, 1807—08.

2 v. 8º.

v. 1 (1807): XV, 532 p.; II (1808): XVII, 574 p.

Sprengel, Kurt.

Geschichte der Botanik. Neu bearbeitet. In zwey Theilen. Altenburg und Leipzig, Brockhaus, 1817—18.

2 v. 8°.

v. I (1817): 4 l., 396 p., 8 col. pl.; II: 4 l., 424 p.

The "Zusätze" (I. p. 383—384) are referable to vol. II.

Each volume has an index of authors, but the contents of these indexes are somewhat intermingled; cf. Bassus, Bauhin, Linné, Schkuhr.

Translation:

Histoire de botanique depuis son origine jusqu'au 19ième siècle. Traduit de l'Allemand sur la seconde édition par A. J. L. Jourdan. Paris, 1832.

2 v. 8°.

Tornabene, Francesco.

Ricerche bibliografice sulle opere botaniche del secolo decimoquinto. Catania, typ. Riggio, 1840.

91 p. 8°.

Treviranus, L. C.

Ueber Pflanzenabbildungen durch den Holzschnitt.

(In Denkschr. K. Botan. Gesellsch. zu Regensburg III (1841), p. 30—42.)

Die Anwendung des Holzschnittes zur bildlichen Darstellung von Pflanzen nach Entstehung. Blüthe, Verfall und Restauration. Leipzig, Rudolph Weigel, 1855.

VI, 1 l., 72 p. 8°.

Trew, Christoph Jacob, 1695—1769.

Librorum botanicorum libri duo quorum prior recentiores quosdam posterior plerosque antiquos ad annum MDL vsque excusos ad dvetvm propriae collectionis breviter recenset, conscripti a Christophoro Jacobo Trew. Norimbergae, stanno Fleischmann, 1752.

[54] p. fol.

Librorum botanicorum catalogvs tertivs in qvo recentiores quosdam ad dvetvm propriae collectionis porro recenset, conscripti a . . . Norimbergae, stanno Fleischmann, 1757.

[55—80] p. fol.

cf.: Cobres, Deliciae I, p. 1; Meyer, Gesch. d. Bot. IV, p. 163.

Wenderoth, Georg Wilhelm Franz.

Literatur der Botanik.

(In his Lehrbuch der Botanik. Marburg, Krieger, 1821, p. 27—89.)

Weston, Richard.

A chronological catalogue of botanical authors (from Theophrastus to the year 1770).

(In his: Botanicus universalis et hortulanus . . . The universal botanist and nurseryman . . . vol. IV, Lond. 1777, p. XVII—LXXX.)

Followed by "Chronological table of botanical authors", sep. paged: I—XXX. Cf. Catal. 608, J. Tregaskis, London, 1906, No. 41.

Winckler, Emil.

Geschichte der Botanik. Frankfurt a. M., Literarische Anstalt (J. Rütten), 1854.

2 l., XVI, 640 p. 12mo.

Comprehensive and useful, although bibliographically inexact in spots.

Wittrock, Veit Brecher.

Illustrerad förteckning öfver Bergielunds botaniska trädgårds samling
porträtt of botaniska författare; jämte biografiska notiser. — *Catalogus
illustratus iconothecæ botanicæ Horti Bergiani Stockholmensis anno 1903;
notulis biographicis adjectis.* Auctore Veit Brecher Wittrock. Cum
46 tabulis. Stockholm, Isaac Marcus' boktryckeri-aktiebolag, 1903.

(*Acta Horti Bergiani.* Bd. 3, No. 3.)

1 l., 198 p., pl. 1, 1a, 1b, 2, 2a, 2b, 2c, 3, 3*, 3**, 3a, 3b, 4—37.
8^o maj.

— — 2 dra delen. Pars II. Cum 151 tabulis. 1905.

2 l., pl. 1—100, 1 l., IX—XCIII p., 1—245 p., pl. 100½—150.

Supplement I.

Bibliographical Catalogues of Private Collections.

Bibliotheca Banks.

Dryander, Jonas.

Catalogus bibliothecæ historico-naturalis Josephi Banks. Londini, typ.
Bulmer et soc. 1796—1800.

Toni I—V.

250 copies printed.

Tom. I. 1798. *Scriptores generales.* — VII, 309 p., 7 l.

Tom. II. 1796. *Botanici.* — XXIII, 656 p., 19 l.

A most exact and diligent work, of great value at all times because of the relative completeness of the library and the careful description of its contents. Periodicals and serials have full collations, and analytical entries are made for their contents, so that the resources of the library appear to the fullest advantage. The main subject in each of the volumes is minutely classified and indexed (conf. Campbell, *Theory of national and international bibliography*, London, 1896, p. 297.

In 1827, the Banks library was incorporated in the British Museum.

Tom. III. 1797.

Tom. IV. 1799.

Tom. V. 1800.

Bibliotheca Cobres.

Cobres, Joseph Paul von.

Deliciae Cobresianae. J. P. Cobres Büchersammlung zur Naturgeschichte.
[Augsburg, 1782.]

Theil I—II. 8^o.

Th. I: 1 l. (engr. title-page), 1 l., XXVIII, 1—470 p. — Th. II: 1 l., 471—956, [1] p. — "Gedruckt zu Augsburg. 1782. Mit Johann Andreas Brinkerhauserschen Schriften": p. 956. B. Pflanzenreich: p. 471—674. Contains many full collations for important works, and descriptive notes.

Bibliotheca Deby.**Deby, Julien.**

A bibliography of the microscope and micrographic studies, being a catalogue of books and papers in the library of J. Deby . . . Part III. The Diatomaceae. Compiled with the co-operation of F. Kitton. London, Bogue, 1882.

[VI], 67 p. 8°.

I found no evidence of a first to second part of the catalogue of Deby's library.

Bibliotheca Riviniana.**[Rivinus, August Quirinus, 1652—1723.]**

Bibliotheca Riviniana, sive Catalogus librorum philologico-philosophico-historicorum, itinerariorum, imprimis autem medicorum, botanicorum et historiae naturalis scriptorum . . . rariorum, quam magno studio et sumtu sibi comparavit D. Augustus Quirinus Rivinus . . . vendenda . . . a die XXVII Octobris MDCCXXVII more auctionis consueto. Praemissa est Vita Rivini descripta per M. Georg Samuel Hermann . . . Lipsiae, typis Immanuelis Titii [1727].

7 l., 740 p. front. (port.). 8°.

"Catalogus copia sua aequae ac eximia fide et erudita librorum dispositione memorabilis, diligentissime a me excerptus, plurimos eosque rarissimos indicat libellos botanicos nullibi alias repertos." Pritzel.

Bibliotheca Thott.**Catalogus Bibliothecæ Thottianæ.**

Catalogi bibliothecæ Thottianæ tomus tertius, libros continens mathematico-physicos, physico-historicos, medico-chirurgico-chymicos etc. publica auctione distrahendos a. 1790. Havniæ, [1790].

Pars I—II.

Pars I: 706 p.; pars II: 809 p.

Botanical titles: Pars I, p. 53—61, 302—320; pars II, p. 369—381, 582—592.

Supplement II.**Bibliographical Catalogues of Public Collections.****London. British Museum (Natural History).**

Catalogue of the books, manuscripts, maps and drawings in the British Museum (Natural History) . . . London, Printed by order of the Trustees; sold by . . . and at the B. M. (N. H.) Cromwell Road, S. W., 1903 — In progress.

Vol. I (1903): VIII, 500 p.; Vol. II (1904): 3 l., 501—1038 p.

I: A—D; II: E—K.

Botanical titles prepared by J. Britten, B. B. Woodward, et al.

A most excellent and very comprehensive catalogue, giving full names and dates for most authors, contents for many collective publications, and numerous excellent bibliographical and descriptive notes.

London. British Museum (Natural History).

The history of the collections contained in the natural history departments of the British Museum . . . London, Printed by order of the Trustees of the B. M.; sold . . . at the B. M. (N. H.) Cromwell Road, S. W., 1904 — In progress.

Vol. I (1904): XVII, 442 p.

p. 77—193: The Department of Botany. Contains a chronological and an alphabetical (by collectors) list of special collections added to the Department; described by George Murray.

p. 23—53: List of important books, manuscripts, and drawings arranged under the names of authors, and previous owners.

Of great historical and bibliographical importance.

Rome. Vatican.**Stevenson giuniore, P. M. da Enrico.**

Inventario dei libri stampati Palatino-Vaticani per ordine di S. S. Leone XIII. Roma, 1886. 8°.

"Umfasst auf 499 Seiten 1900 Nummern und enthält so manches ältere botanische und gärtnerische Buch, welche wohl verdienten, genauer namhaft gemacht zu werden." — F. von Herder.

St. Louis. Mo. U. S. A. Missouri Botanical Garden.

The Sturtevant prelinnean library in the Missouri Botanical Garden. (Seventh ann. report, Missouri Bot. Gard. (1896), p. 123—209. Also issued separately.)

Prepared by J. Christian Bay and C. E. Hutchings. Pref. by W. T. release. A supplementary catalogue of the Sturtevant prelinnean library, by C. E. Hutchings.

(Fourteenth ann. report, Missouri Bot. Gard. (1903), p. 233—316. Also issued separately.)

U. S. Department of Agriculture. — Library.

Catalogue of publications relating to botany in the Library of the U. S. Department of Agriculture. Prepared under the direction of the Librarian. Washington, Government Printing Office, 1902.

242 p.

(Library. — Bull. No. 22.)

Josephine A. Clark, Librarian.

2574 entries, arranged alphabetically by authors. Followed by an index of subjects. Prepared with much care and very useful.

Washington, D. C. Smithsonian Institution.

Catalogue of the botanical library of John Donnell Smith presented in 1905 to the Smithsonian Institution. Compiled by Alice Cary Atwood. (Contrib. U. S. National Herbarium XII (1908), p. 1—94.)

Contains some 1600 bound volumes, chiefly works relative to systematic botany, especially of Mexico and Central America.

St. Petersburg. Imperatorskii botanicheskii sad.**Berg, Ernst von.**

Catalogus systematicus bibliothecae Horti imperialis botanici Petropolitani. Petropoli, Typ. Acad. caes. scient., 1852.

XVI, 514 p. 8°.

An excellent collection, carefully catalogued. Conf. Berg, in Gartenflora 1865, p. 341—342.

Catalogue alphabétique et méthodique des desseins des plantes exécutés et conservés au Jardin impérial de botanique à St. Pétersbourg, Impr. de l'Acad. impér. des sciences, 1857.

1 l., 36 p. 8°.

Herder, F. von.

Catalogus systematicus bibliothecae Horti imperialis botanici Petropolitani.
Editio nova. Petropoli, 1886.

510, XI p. 8°.

The first edition, compiled by E. v. Berg, appeared in 1853.
Supplements to the second ed., see Klinge.

Klinge, J.

Catalogus systematicus bibliothecae Horti imperialis botanici Petropolitani
1886—1898 . . . Petropoli, 1899.

VII, 253 p. 8°.

Catalogus . . . 1898 . . . Petropoli, 1899.

47 p. 8°.

Title in Latin and Russian.

These catalogues are supplementary to the catalogue compiled by
F. v. Herder and published in 1886. With this, they form an
entity.

3 a. National (Regional) Bibliographies.

Arrangement of titles:

- 1) by countries, their provinces, subdivisions and localities;
- 2) by scope. Comprehensive bibliographies first. Annual lists published continuously are arranged in chronological sequence. Otherwise a simple sequence by authors.

AFRICA — SENEGAL.

Vallot, Joseph.

Étude sur la flore du Senegal. Paris, J. Lechevalier, 1883.

Notice sur les voyages botaniques accomplis dans l'Afrique tropicale:
p. 11—42.

Separate from Bull. Soc. bot. Fr. XXIX (1883).

ARABIA.

Wüstenfeld, Heinrich Ferdinand.

Geschichte der arabischen Aerzte und Naturforscher. Nach den Quellen
bearbeitet. Göttingen, bei Vandenhoeck und Ruprecht, 1840.

XVI, 167, [14] p., 1 l. 8°.

ASIA.

Diels, Ludwig.

Die von 1890—1896 erschienene Litteratur über die Flora Ostasiens und
ihre wichtigeren Ergebnisse.

(In Botan. Jahrb. XXIV (1898), Litteraturbericht, p. 81—95.)

Franchet, A.

Revue des travaux sur la botanique descriptive et la géographie botanique
des plantes de l'Asie publiés en 1888.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 443—452.)

AUSTRALIA.

Diels, Ludwig.

Geschichte und Literatur der botanischen Erforschung des extratropischen
West-Australiens.

(In his Die Pflanzenwelt von West-Australien. Leipzig, Engel-
mann, 1906, p. 41—72. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von
A. Engler u. O. Drude. VII.))

AUSTRALIA — NEW ZEALAND.

Cockayne, L.

A botanical excursion during midwinter to the Southern islands of New Zealand.

(In Transact. New Zeal. Inst. XXXVI (1904), p. 225—333; 11 pl., 2 maps.)

Includes bibliography of the flora of this region: p. 326—332.

AUSTRIA.

Bittner, Josef.

Systematisch-geordnetes Verzeichnis der Programmarbeiten österreich. Mittelschulen aus den Jahren 1874—1889. Teschen, S. Stuks, 1891.

I. Theil: 1890. — 39 p. 8°.

II. Theil: 1891. — 108 p. 8°.

— — III. Teil. Czernowitz, Selbstverlag, 1906.

1 l., 175 p., 27 p. 8°.

I. Anhang. Autorenverzeichnis.

Botanik: Theil II, p. 77—81; Theil III, p. 144—149.

Beck von Mannagetta, Günther, Ritter.

Die Entwicklung der Pflanzengeographie in Oesterreich während der Jahre 1850 bis 1900.

(In Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900, hrsg. von der K. K. Zool.-Botan. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 127—154.)

Burgerstein, Alfred.

Verzeichniss jener botanischen Abhandlungen, welche in den Programmen (Jahresberichten) der österreichischen Mittelschulen in den Jahren 1850—1885 veröffentlicht wurden.

(In Oesterr. bot. Zeitschr. XXXVI (1886), p. 94.)

Dalla Torre, K. W. von.

Die naturhistorischen Programmaufsätze der österreichischen Unterrichtsanstalten.

(In Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900, hrsg. von der K. K. Zool.-Botan. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 535—600.)

1194 entries; p. 591—600: subject index.

Fritsch, Karl.

Geschichte der Institute und Corporationen, welche in Oesterreich von 1850 bis 1900 der Pflege der Botanik und Zoologie dienen.

(In Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900, hrsg. von der Zool.-Bot. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 17—124.)

Laus, H.

Die botanische Litteratur Mährens und Oesterreich-Schlesiens bis 1903.

(In Zeitschr. d. Mährischen Landes-Museums III (1903), p. 18—52.)

Marchesetti, C.

Bibliographia botanica, ossia catalogo delle pubblicazioni intorno alla flore del litorale austriaco. Trieste, 1895.

82 p. 8°.

762 entries.

K. K. Zoologisch-Botanische Gesellschaft. Wien.

Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900. Hrsg. von der K. K. Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien anlässlich der Feier ihres fünfzigjährigen Bestandes. Wien, A. Hölder, 1901.

IX, 620 p., illus., 38 pl. (mostly portraits).

K. K. Zoologisch-Botanische Gesellschaft. Wien.

See: Beck von Mannagetta, Günther, Ritter.

Burgerstein, Alfred.

Dalla Torre, K. W. von.

Fritsch, Karl.

Wettstein, R. von.

Zahlbruckner, Alexander.

AUSTRIA — BOHEMIA.**Maiwald, Vincenz, 1852 —**

Die opizische Periode in der floristischen Erforschung Böhmens.

(Jahres-Bericht d. öffentl. Stifts-Obergymnasiums d. Benedictiner zu Braunau in Böhmen, 1901, p. 1—102, w. pl. — 1902, p. (by contin.) 103—184.)

Bio-bibliographies.

Geschichte der Botanik in Böhmen. Wien und Leipzig, C. Fromme, 1904. VIII, 297 p. 8°.

Sternberg, Kaspar, Graf.

Abhandlung über die Pflanzenkunde in Böhmen. Prag, Gedr. bei Gottlieb Haase, 1817.

2 v. [1817—1818]. 8°.

Each volume has separate title-page:

v. I: Abhandlung . . . Böhmen. In zwey Abtheilungen. Erste Abtheilung. Historisch-chronologische Entwicklung der Fortschritte der Pflanzenkunde in Böhmen. Aus den Abhandlungen der k. böhmischen Gesellschaft besonders abgedruckt. Prag, In Commission bei J. G. Calve.

168 p. 8°.

v. II: Abhandlung . . . Böhmen. Zweyte Abtheilung. Prag, Gedruckt bei Gottlieb Haase.

128, XLVI p., 1 l. 8°.

To v. II are appended, in pages numbered in Roman letters, several indexes of plant names. Following these is one unnumbered leaf containing emendata to both volumes. There is no author index.

Originally published in Abhandl. d. k. böhmischen Gesellschaft d. Wiss. VI (1817—18).

AUSTRIA — CARNIOLA.**Voss, Wilhelm.**

Versuch einer Geschichte der Botanik in Krain. (1754 bis 1883.) I. Hälfte. (In Jahresbericht der Staats-Oberrealschule in Laibach für das Schuljahr 1884.) — Sep. with sep. title-page: Laibach, In Commission bei Jg. v. Kleinmayr & Ferd. Bamberg, 1884 — 1 l., 59 p., front. (portrait). 8°.

Versuch einer Geschichte der Botanik in Krain. (1754 bis 1883.)

(Ibid. 1885.) — Sep., with half-title: Laibach, Gedruckt und in Commission bei Jg. v. Kleinmayr & Fed. Bamberg, 1885. — 41 p. 8°.

Verzeichniss der auf die Flora Krains bezüglichen Schriften und Sammlungen: p. 21—39.

Ullepitsch, Josef.

Ein kleiner Nachtrag zu Voss' „Versuch einer Geschichte der Botanik in Krain“. Laibach, 1884.

(In Oesterreich. bot. Zeitschr. XXXV (1885), p. 59.)

AUSTRIA — DALMATIA.

Gjonovič, N.

Enumeratio auctorum qui florae Dalmaticae studio operam dederunt.
Mostar, 1905

9 p. 8°.

Privately published.

AUSTRIA — LUSSIN.

Tommasini, Muzio de.

Flora dell'isola di Lussino. Con aggiunte e correzioni di C. de Marchesetti. Trieste, 1895.

96 p. 8°.

“Der Herausgeber . . . zählt . . . 33 Litteratur-Nummern auf, welche die Pflanzenwelt Lussins besprechen.”

AUSTRIA — TIROL.

Dalla Torre, K. W. von.

Die Litteratur der Flora von Tirol, Vorarlberg und Liechtenstein. Innsbruck, Wagner, 1900.

XXV, 414 p. 8°.

(Added title-page: Flora der . . . Tirol, des . . . Vorarlberg und des . . . Liechtenstein. I. Band.)

Bio-bibliography, arranged alphabetically by authors, with an elaborate index. A thorough and painstaking work.

Supplements in the subsequent volumes (1901) of the Flora: vol. II (Algae), p. XXI—XXII; vol. III (Fungi), p. XXXIX—LIV; vol. IV (Lichenes), p. XLIII—XLVI; vol. V (Musci), p. XLVIII—LIV.

Hausmann, Franz von.

Die Literatur der Flora des Landes [i. e. Tirol] und Notizen über die zu selber Bezug habenden Botaniker.

(In his Flora von Tirol. Innsbruck 1851—1854: Anhang.)

Heufler, Ludwig, Ritter von.

Nachricht über den Zustand der Botanik in Tirol.

(In Flora, Jahrg. XXVI (1843), II. Bd., p. 589—597.)

Nachtrag . . . [von] Franz Ambrosi. — Ibid., Jahrg. XXVII (1844), p. 581—582.

Schönach, Hugo.

Literatur und Statistik der Flora von Tirol und Vorarlberg.

(VI. Programm der k. k. Unter-Realschule in Bruneck, 1880, p. 3—24.)

Die Litteratur der Flora von Tirol und Vorarlberg.

(Programm d. k. k. Real- und Obergymnasium Feldkirch, 1882.)

44 p. 8°.

AZORES.

Trelease, William.

Principal works dealing chiefly with the botany of the Azores.

(In his Botanical observations on the Azores (In the Eighth ann. report (1897), Missouri Bot. Garden, St. Louis, Mo., 1897, p. 77—220), p. 210—211.)

BALKAN PENINSULA.

Beck, Günther, Ritter von Mannagetta.

Litterarische Hilfsquellen [zur botanischen Erforschung Illyriens].

(In his Vegetationsverhältnisse der illyrischen Länder. Leipzig, Engelmann, 1901, p. 1—45. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. IV.))

BELGIUM.

Cogniaux, A.

Des ressources bibliographiques dont les botanistes disposent en Belgique.
(In Bull. Soc. bot. de Belg. XII (1873), p. 147—166.)

BERMUDA ISLANDS.

Cole, George Watson.

Bermuda in periodical literature, with occasional references to other works:
a bibliography. Boston, Boston Book Company, 1907.

IX, [2], 275 p., front. (port.), 8 facsim. 8°.

"... is a reprint, with considerable additions, of two series which
have appeared in the Boston Book Company's quarterly periodical
Bulletin of Bibliography.

Rich in botanical references, most carefully analyzed and
annotated.

CANADA.

Penhallow, D. P.

A review of Canadian botany from the first settlement of New France to
the nineteenth century. Part I.

(In Proceed. and Transact., Roy. Soc. Canada, V, 1887, section IV,
p. 45—61.)

A review of Canadian botany from 1800 to 1895. Part II.

(Ibid., Ser. 2, III, 1887, sec. IV, p. 3—56.)

Mac Kay, A. H.

Botanical bibliography of Canada, 1900.

(In Proceed. and Transact., Roy. Soc. Canada, Ser. 2, VII, 1901,
section IV, p. 141—142.)

Botanical bibliography of Canada, 1901.

(Ibid., Ser. 2, VIII, 1902, section IV, p. 157—160.)

Botanical bibliography of Canada, 1902.

(Ibid., IX, 1903, section IV, p. 169—172.)

Bibliography of Canadian botany for 1903.

(Ibid., X, 1904, part I, section IV, p. 153—160.)

Bibliography of Canadian botany for 1904.

(Ibid., XI, 1905, section IV, p. [143]—[152].)

Bibliography of Canadian botany for 1905.

(Ibid., XII, pt. I (1906), section IV, p. [33]—[48].)

CENTRAL AMERICA.

Hemsley, W. B.

Bibliography [of the botanical literature of Mexico and Central America].

(In Biologia Centrali-Americana. Ed. by Godman and Salvin. —
Botany. vol. IV (1886—1888), p. 316—332.)

See also South America.

CHINA.

Bretschneider, Emil.

On the study and value of Chinese botanical works, with notes on the
history of plants and geographical botany from Chinese sources. Peking,
1870.

51 p., 8 pl. 8°.

Early European researches into the flora of China.

(In Journal of the North-China branch of the Royal Asiatic Society.
1880. New series no. XV, Shanghai, [1881], p. 1—194.)

Afterward incorporated, in revised and abridged form, in his
Hist. Europ. bot. discov. China. 1898; see below.

CHINA.

Bretschneider, Emil.

Botanicon sinicum. Notes on Chinese botany from native and Western sources.

(Ibid. 1881. New series vol. XVI, Shanghai 1882, p. 18—230.)

— Part II. The botany of the Chinese classics, with annotations, appendix and index by . . . E. Faber. Shanghai, 1892.

II, 468 p. 8°.

— Part III. Botanical investigations into the materia medica of the ancient Chinese. Shanghai, 1895.

623 p. 8°.

History of European botanical discoveries in China. London, Low, Marston & Co., 1898.

2 v. 8°.

Paged continuously: vol. I, XV, 624 p.; vol. II, (2), 625—1167 p.

See also Japan.

DENMARK.

Brünnich, Morten Thrane.

Literatura Danica scientiarum naturalium, quæ comprehenduntur. I. Les progrès de l'histoire naturelle en Dannemarc & en Norvège. II. Bibliotheca patria autorum et scriptorum, scientias naturales tractantium. Hafniae et Lipsiae, Pelt, 1783.

1., 124, 242, XII p. 8 l.

Part II has separate title-page, and occurs separately: Bibliotheca, ordine chronologico recensens Daniae, Norvegiae, Islandiae & Holsatiae, autores et libros, scientias naturales tractantes, additis editionis loco, tempore, forma, lingua etc. Digessit Martinus Thrane Brünnich. 1783.

Useful and reliable.

Didrichsen, Didrich Ferdinand.

For hundrede Aar siden: smaa Samlinger til et Tidsrum af den danske Botaniks Historie.

(Naturhistorisk Tidsskrift. 3. række, Bd. 6 (1869), p. 49—102.) — Sep., with sep. title-page. Kjöbenhavn, Thieles Bogtr., 1869. — 1 l., p. 49—102. 8°.

[Manuscripts and notes concerning historicö-botanical subjects, in the library of the Botanical garden, at Copenhagen. Conf. Bot. Tidsskrift, XVIII (1892), p. 103.]

Winther, M.

Literatura scientiae rerum naturalium in Dania, Norvegia et Holsatia usque ad annum 1829 . . . Havniae, Wahl, 1829.

XVI, 248 p.

A classified list of books; useful, but inexact.

Warming, J. E. B.

Den danske botaniske Literatur fra de ældste Tider til 1880.

(In Botanisk Tidsskrift, XII (1880—81), p. 42—131; 158—247.) — Sep., with sep. title-page, Kjöbenhavn, Carl Lunds Bogtr., 1881. — 1 l., [1] p., 42—131, 158—247 p. 8°.

Arranged chronologically by authors. Under each author a brief biographical note followed by a chronological list of publications. Includes both independent works and articles in periodicals, but lacks separate list of periodicals as well as subject index. P. 239—247: Index of authors. A number of authors revised the lists of their publications. — A thorough and exact work.

DENMARK.

Warming, J. E. B.

Supplement:

Bay, J. Christian.

Tillæg til "Den danske botaniske Litteratur fra de ældste Tider til 1880, sammenstillet af Eug. Warming", af J. Christian Bay.

I. Fra de ældste Tider indtil 1800.

(In Botanisk Tidsskrift. XVII (1890), p. 315—327. — Sep., with sep. title-page and pagin: (1)—(17).)

II. Fra 1800—1880.

(Ibid. XVIII (1892), p. 95—103.)

Lange, Johann Martin Christian.

Dansk botanisk Litteratur 1859—64.

(In Bot. Notiser, 1865, p. 113—117, 131—135, 165—167.)

Oversigt over de i Danmark udkomne eller af danske Botanikere udgivne Skrifter af botanisk Indhold i Aaret 1865.

(Ibid., 1866, p. 79—81.)

Oversigt . . . [ut supra] i 1866.

(Ibid., 1867, p. 89—91.)

Oversigt . . . [ut supra] i 1867.

(Ibid., 1868, p. 43—46.)

No annual lists previous to 1859.

Warming, J. E. B.

Oversigt over de i Danmark trykte, samt af danske Botanikere i Udlandet publicerede botaniske Arbejder (videnskabelige og populære) 1868—1870.

(In Bot. Notiser, 1871, p. 60—65.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1871.

(Ibid., 1872, p. 123—126.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1872.

(Ibid., 1873, p. 140—142.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1873 og 1874.

(Ibid., 1875, p. 15—19.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1875 og 1876.

(Ibid., 1876, p. 186—189.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1877.

(Ibid., 1878, p. 74—78.)

Dansk botanisk Literaturfortegnelse for 1878.

(Ibid., 1879, p. 45—49.)

Annual lists converging previous years, see Lange; subsequent years, see Poulsen, Rosenvinge, Rützou, Bay, Sarauw, Mentz, and A. Didrichsen.

Übersicht über die wichtigsten Erscheinungen in der dänischen botanischen Literatur.

(In Flora, 1869, p. 113—116, 273—281, 400—408.)

Übersicht . . . [ut supra].

(Ibid., 1870, p. 41—52, 113—115, 353—362.)

Übersicht über die Erscheinungen in der dänischen botanischen Literatur.

(Ibid., 1872, p. 457—464.)

Übersicht . . . [ut supra].

(Ibid., 1873, p. 92—94, 102—107.)

DENMARK.

Poulsen, V. A.

Oversigt over de i Danmark trykte samt af danske Botanikere i Udlandet publicerede, botaniske Arbejder (videnskabelige og populære), 1879.

(In Bot. Notiser, 1880, p. 49—53.)

Rosenvinge, J. L. A. Kolderup.

Oversigt over de i Danmark trykte samt af danske Botanikere i Udlandet publicerede botaniske Arbejder (videnskabelige og populære). 1880—81 samt Tillæg til 1879.

(In Bot. Notiser, 1883, p. 165—172.) Sep., Lund 1883. — p. 165—172.

Dansk botanisk Litteratur i 1882.

(In Medd. bot. Foren., Kjöbenhavn, I (1883), p. 59—61.)

The two above named lists were absorbed in Rützou's list for the years 1880—1883 (see Rützou).

Rützou, Sophus.

Dansk botanisk Litteratur i 1880—1883.

(In Medd. bot. Foren., Kjöbenhavn, I (1884), p. 108—119.)

Dansk botanisk Litteratur i 1884.

(Ibid., I (1885), p. 160—161.)

Dansk botanisk Litteratur i 1885.

(Ibid., I (1886), p. 207—210.)

Dansk botanisk Litteratur i 1886.

(Ibid., II (1887), p. 30—33.)

Dansk botanisk Litteratur i 1887.

(Ibid., II (1888), p. 74—78.)

Bay, J. Christian.

Dansk botanisk Litteratur i 1888.

(In Medd. bot. Foren., Kjöbenhavn, II (1889), p. 116—122.)

Dansk botanisk Litteratur i 1889.

(Ibid., II (1890), p. 149—154.)

Dansk botanisk Litteratur i 1890.

(Ibid., II (1891), p. 231—238.)

Sarauw, Georg F. L.

Dansk botanisk Litteratur i 1891.

(In Bot. Tidsskr. XVIII (1893), p. XXIX—XXXIII.)

Mentz, August.

Dansk botanisk Litteratur i 1892—1893.

(In Bot. Tidsskr. XIX (1894), p. XXV—XXXIV.)

Supplement: Ibid., XX (1896), p. XXXIII.

Dansk botanisk Litteratur i 1894.

(Ibid., XX (1896), p. XXIX—XXXIII; XL.)

Dansk botanisk Litteratur i 1895.

(Ibid., XX (1896), p. XXXIV—XL.)

Dansk botanisk Litteratur i 1896.

(Ibid., XXI (1897), p. XXXIV—XL.)

Supplements to 1893—1896: Ibid.

Dansk botanisk Litteratur i 1897.

(Ibid., XXII (1899), p. XVIII—XXIV.)

Dansk botanisk Litteratur i 1898.

(Ibid., XXIII (1901), p. XIII—XXI.)

Contains also supplements to 1896—1897.

DENMARK.

Mentz, August.

Dansk botanisk Litteratur i 1899.

(Ibid., XXIV (1901), p. XVI—XXIV.)

Dansk botanisk Litteratur i 1900—1901.

(Ibid., XXV (1903), p. XIV—XXVII.)

Didrichsen, A.

Dansk botanisk Litteratur i 1902—1903.

(In Bot. Tidsskr. XXVI (1905), p. LII—LXV.)

Christensen, Carl.

Dansk botanisk Litteratur i 1904 og 1905.

(In Bot. Tidsskr. XXVII (1906), p. LXVI—LXXIX.)

DENMARK — GREENLAND; see GREENLAND.

DENMARK — ICELAND; see ICELAND.

ENGLAND.

Britten, James, and Boulger, G. S.

A biographical index of British and Irish botanists. London, West, Newman & Co., 1893.

XV, 188 p. 8°.

Repr. from Journ. of Bot. 1888—1891 (vols. XXVI—XXIX).

Most careful and exact.

— — First supplement (1893—1897). London, West, Newman & Co., 1898. p. 193—222. 8°.

Repr. from Journ. of Bot. XXXVI (1898), p. 99—103; 145—149, 192—195, 267—271, 443—446; XXXVII (1899), p. 77—84.

— — Second supplement (1898—1902). London, West, Newman & Co., 1904. 20 p. 8°.

Repr. from Journ. of Bot. XLI (1903), p. 343—346, 371—378; XLII (1904), p. 378—385.

Trimen, Henry.

Botanical bibliography of the British counties.

(In Journal of Bot. III (1874), p. 66—73, 103—112, 178, 233—238.)

Weston, Richard.

A catalogue of English, Irish and Scotch authors on agriculture, gardening and botany, arranged in chronological order from the year 1480 to 1700.

(In Commercial and Agricultural Magazine 1803, p. 117.)

Woodhead, T. W.

Ecology of woodland plants in the neighborhood of Huddersfield.

(In Journ. Linn. Soc. London. Botany, XXXVII (1906), p. 333—406.)

Bibliography: p. 399—404.

ENGLAND — PERTSHIRE.

Rodger, Alex. M.

References to Pertshire botany.

(In his Illustrated handbook to the Pertshire Nat. Hist. Museum, Perth, 1906, p. 63—65.)

ENGLAND — WOAD.

Flowright, Ch. B.

Woad; its bibliography.

(In Transact., Norfolk and Norwich Naturalist's Soc. VII (1901), p. 138—146.)

Treats of *Isatis tinctoria*.

ENGLAND — WALES.

England. Royal Commission on Land in Wales and Monmouthshire.
[History of the flora of Wales.]

(In Journ. of Bot. XXXVI (1898), p. 10—23.)

Originally issued as Appendix B to the Report of the Commission, in 1896. Prepared by D. Llewellyn Thomas, with considerable additions by James Britten.

ENGLAND — YORKSHIRE.

Baker, John Gilbert.

The fathers of Yorkshire botany.

(In Botan. transactions of the Yorkshire Naturalists' Union, I (Leeds, 1891), p. 185—201.)

Lees, Frederick Arnold.

Bibliography of Yorkshire botany 1548—1885.

(In his Flora of West Yorkshire. London, 1888, p. 87—99.)

FINLAND.

Saelan, Theodor.

Öfversigt af Finlands botaniska litteratur från 1635 till 1865.

(In Notiser ur Sällskapet pro fauna et flora fennica förhandlingar, H. 7 (Helsingfors 1867), p. 83—117. — Sep., w. orig. pagin: Helsingfors, 1867.)

Finsk botanisk litteratur år 1866—1870.

(In Botan. Notiser 1871, p. 160—162, 193—195.)

Brenner, M.

Finsk botanisk litteratur 1871 och 1872.

(In Botan. Notiser 1873, p. 112—113, 142—143.)

Contains supplements to Saelan's list for 1866—1870.

Elfving, Fr.

Finsk botanisk litteratur 1873—79.

(In Bot. Notiser, 1881, p. 61—65.) Sep., Lund, 1881: p. 61—65. 8°.

— — — 1880—82.

(Ibid., 1883, p. 162—165.) Sep., Lund, 1883: p. 162—165. 8°.

Kihlman, A. O.

Finlands botaniska litteratur 1883—87.

(In Bot. Notiser, 1888, p. 178—186.)

Finsk botanisk litteratur 1888—1890.

(Ibid., 1891, p. 267—270; 1892, p. 41—45.) Sep.

— — — 1891—1893.

(Ibid., 1894, p. 202—211.)

Kalm, Pehr.

Specimen academicum sistens fata botanices in Finlandia, quam . . . præside . . . P. Kalm . . . defert Andreas Collin . . . Aboæ, [1758].

[VI], 20 p. 4to.

Finland.

Exposé des travaux géographiques exécutés en Finlande jusqu'au 1895. Communication faite au 6. Congrès Internationale de Géographie à Londres 1895 par la Société de Géographie de Finlande. Helsingfors, 1895.

Contains: Géographie botanique; by J. P. Norrlin. — Phénologie; by A. Osw. Kihlman.

FRANCE.

Boulay, A.

Bibliographie de l'histoire de la botanique dans le Nord de la France.

(In his Révision de la flore des départements du Nord de la France. Paris, Savy, 1878, p. 8—34.)

FRANCE.

Brongniart, A. T.

Rapport sur les progrès de la botanique phytographique. Publication faite sous les auspices du Ministère de l'Instruction publique. Paris, Imprimerie impériale, 1868.

[4], 216 p. 8°.

At head of title and added title page: "Recueil de rapports sur l'état des lettres et les progrès des sciences en France."

Lamarck, J. B. A. P. M., Chevalier de, and De Candolle, A. P.

Liste des auteurs qui ont écrit sur les plantes de la France . . .

(In their *Flore française*, Paris 1805–1815; vol. IV (1815), p. 925–930; vol. VI (1815), p. 647–649.

Long, Jacob de.

De scriptoribus historiae naturalis Galliae.

(With Scheuchzer, J. J., *Bibliotheca scriptorum historiae naturalis omnium terrae inservientium*. Tiguri 1716, and 2. ed., 1751.)

Masclef, A.

Revue des travaux sur la classification et la géographie botanique des plantes vasculaires de la France publiés en 1888 et 1889.

(In *Rev. gén. de bot.* II (1890), p. 555–563; III (1891), p. 43–48, 85–96, 135–144, 189–192; IV (1892), p. 392–400, 442–448, 503–512, 569–576.)

Maheu, Jacques.

Contribution à l'étude de la flore souterraine de France.

(In *Ann. d. sci. natur. Botanique*. Sér. 9, Tom. III (1906), p. 1–189.)
p. 3–9: "Historique", with bibliographical references.
p. 178–189: Bibliographie.

A very useful bibliography, although not pretending to be complete.

Saint-Lager.

Étude bibliographique. Les nouvelles flores de France. Paris, J. B. Baillière et fils, 1894.

31 p. 8°.

FRANCE — ALPES MARITIMES.

Burnat, Émile.

Botanistes qui ont contribué à faire connaître la flore des Alpes-Maritimes. Bibliographie et collections botaniques.

(In *Bull. de la Soc. bot. de France*, XXX (1885). Also sep., with sep. cover-title and pagin.: 1–27.)

See also Switzerland — Alps.

Lizan, L.

Bibliographie générale du Département des Alpes-Maritimes. Nice, J. Barma, 1900.

XIV, 142 p., 1 l. 8°.

Botanique: p. 92–96.

FRANCE — AUVERGNE.

Bruyant, C.

Bibliographie raisonnée de la faune et de la flore limnologique de l'Auvergne. Paris, 1894.

FRANCE — CANTAL.

Lauby, Ant.

Botanique du Cantal. Bio-bibliographie analytique suivie d'une liste des végétaux vivants et fossiles nouveaux pour cette région. Paris, Baillière & fils, 1903.

[4], 72, [2] p. 8°.

FRANCE — CORSICA.

Bonnet, Edmond.

Essai d'une bio-bibliographie botanique de la Corse.

(In Assoc. française pour l'avancem. des sci. Comp. rendu de la 30^{me} session, Ajaccio, 1901. Paris, 1902, p. 415—431.)

FRANCE — LIMOUSIN.

Nussac, L. de.

Essai de bibliographie limousine des sciences naturelles. II. Botanique.

(In Rev. sci. Limousin XIV (1906), p. 344—350.)

FRANCE — LYON.

Magnin, A.

La botanique phytostatique à Lyon. Notes extraites d'une histoire de la botanique à Lyon, en préparation. Lyon, 1880.

4 p. 8°.

Bio-bibliographical notes on Lyon collectors.

FRANCE — ORNE.

Letacq, A. L.

Notices sur quelques botanistes ornaï et essai sur la bibliographie botanique du Département de l'Orne.

(In Bull. Soc. Linn. de Normandie ser. IV, Tom. II (1889), p. 228—291.) Sep., Caen, Delesques, 1889. 66 p. 8°.)

FRANCE — PROVENCE.

Garidel, Pierre Joseph.

Histoire des plantes, qui naissent aux environs d'Aix et dans plusieurs autres endroits de la Provence (avec une explication des noms des auteurs botanistes, avec quelques remarques historique sur leurs ouvrages.) Aix, J. David, 1715.

XXXIV, XLII, 522 p., ind., 100 pl. fol.

Other issues of later dates, with other imprints, but all of the same make-up as the first ed.

FRANCE — SAÔNE-ET-LOIRE.

Jeandet, Abel.

Recherches bio-bibliographiques pour servir à l'histoire des sciences naturelles en Bourgogne et particulièrement dans le département de Saône-et-Loire depuis le XVI^e siècle jusqu'à nos jours. Macon, Protat Frères, imp., 1892.

3 l., 113 p. 8°.

"Extrait des Bulletins de la Société des sciences naturelles de Saône-et-Loire." — "Tiré a 60 exemplaires."

Notice sur la vie et les travaux de [Jean-Paptiste-Louis-Theodoré] Leschenault de la Tour . . . 1773—1826: p. 83—133.

GALAPAGOS ISLANDS.

Day, Mary A.

Bibliography of the botany of the Galapagos Islands.

(In Robinson, B. L., Flora of the Galapagos Islands (Proc. Amer. Acad. Arts and Sci., XXXVIII (1902) No. 4 (p. 77—269), p. 80—82). [Contrib. from the Gray Herbarium of Harvard Univ., New ser., no. XXIV.]

GERMANY.

Buchenau, F.

Naturwissenschaftlich-geographische Literatur über das nordwestliche Deutschland.

(In Abhandlungen hrsg. v. Naturwiss. Verein zu Bremen):

IX (1887), p. 225—243 (published May, 1885), 300—302 (publ. April, 1886), 469—471 (publ. April, 1887).

X (1889), p. 246—248 (publ. Jan., 1888), 571—574 (publ. April, 1889).

XI (1890), p. 429—432 (publ. April, 1890).

XII (1893), p. 158—161 (publ. April, 1891), 291—294 (publ. May, 1892), 555—561 (publ. March, 1893).

XIII (1896), p. 75—80 (publ. April, 1894), 342—347 (publ. April, 1895), 493—498 (publ. March, 1896).

XIV (1898), p. 335—340 (publ. April, 1897), 515—520 (publ. April, 1898).

XVI (1900), p. 399—406 (publ. Sept., 1899), 544—547 (publ. Sept., 1900).

XVII (1903), p. 295—305 (publ. Jan., 1903).

Leimbach, G.

Beiträge zur Geschichte der deutschen Floristik. I. Die Floren der deutschen Universitätsstädte.

(In *Irmischia*. VI (1886), p. 3.)

Oligschläger, F. W.

Geschichte der Botanik im Bergischen, oder an der rechten Niederrhein-Seite.

(In *Flora*, Jahrg. XVI (1833), Bd. I, p. 337—351.)

Schorler, B.

Übersicht über die wichtigeren in den Jahren 1892—94 über die Flora von Nord- und Mitteldeutschland erschienenen Arbeiten.

(In *Botan. Jahrb.* XXII (1897), Litteraturbericht, p. 1—24.)

Schulz, August.

Die floristische Litteratur für Nord-Thüringen, den Harz und den provinziälsächsischen wie anhaltischen Theil der norddeutschen Tiefebene. Halle a. S., Tausch und Grosse, 1889.

90 p. 8°.

Zur floristischen Litteratur.

(In *Mittheil. d. Vereines für Erdkunde in Halle*, 1891, p. 125.)

GERMANY — BADEN.

Lehmann, F. X.

Die Litteratur für vaterländische Naturkunde im Grossherzogthum Baden. Karlsruhe, Braun, 1885.

44 p. 8°.

Leutz, J.

Verzeichniss der in den letzten 100 Jahren erschienenen botanischen Publicationen für das Grossherzogthum Baden.

(In *Mittheil. d. bot. Vereins für den Kreis Freiburg und das Land Baden*, 1885, No. 24—25.)

GERMANY — BAVARIA.

Prantl, K.

Exkursionsflora für das Königreich Bayern. Stuttgart, 1884.

Contains (p. XIII —) "die wichtigste bis dahin erschienene Litteratur" concerning the floristic relations of Bavaria. — See Poeverlein.

GERMANY — BAVARIA.

Poeverlein, Hermann.

Die seit Prantls „Exkursionsflora für das Königreich Bayern“ (I. Auflage. Stuttgart 1884) erschienene Literatur über Bayerns Phanerogamen- und Gefäßkryptogamenflora. Regensburg; Verlag der [K. Botan.] Gesellschaft [in Regensburg], 1899.

(In Denkschriften d. k. bot. Gesellsch. in Regensb. VII (N. F. I), 1. Beilage.)

27 p. 8°.

Ade, A.

Flora des bayerischen Bodenseegebietes. Uebersicht über die im bayerischen Bodenseegebiet bis jetzt beobachteten wildwachsenden Phanerogamen und Gefäßkryptogamen.

(In Berichte der bayer. botan. Gesellsch. VIII, Abt. 2 (1902.)) Sep., 127 p. 8°.

Contains a list of publications on the flora of the region.

Holzner, G.

Zur floristischen Literatur Bayerns.

(In Mitth. Botan. Gesellsch. München. No. 19 (1901), p. 198—200.)

Poeverlein, H.

Die Literatur über Bayerns floristische, pflanzengeographische und phänologische Verhältnisse.

(In Ber. d. Botan. Gesellsch. München, VIII (1902), p. 25—32; IX (1904), [p. 1—6]; X (1905), [p. 1—3].)

v. IX—X have every article pagged separately, and the articles are not numbered.

Sturm, J. W.

[Litteratur über die Flora von Nürnberg.]

(In Flora XXVIII, 1, p. 645—647.)

GERMANY — FRIESIAN ISLANDS.

Buchenau, F.

Literatur über die ostfriesischen Inseln.

(In Abhandlungen hrsg. v. Naturwiss. Verein zu Bremen VIII (1884), p. 573—588.)

GERMANY — HESSEN.

Leimbach, G.

Beiträge zur Geschichte der Botanik in Hessen aus dem 16., 17. und Anfang des 18. Jahrhunderts. Zur 200-jährigen Gedenkfeier für Heinr. Bernh. Rupp aus Giessen, den Verfasser der ältesten thüringischen Flora. Arnstadt, 1888.

4to.

GERMANY — LOTHRINGEN.

Barbiche, (A b b é).

Revue critique de la bibliographie botanique locale.

(In XV^e Bulletin de la Société d'hist. nat. de Metz. — Separately, Metz, 1882. 35 p. 8°.)

GERMANY — POMMERANIA.

Denso, J. D.

Von einigen pommerischen Naturalscribenten.

(In his Physikalische Briefe, 1. Bandes 1. Theil. Stettin, 1750—1751, p. 189—216.)

GERMANY — PRUSSIA.

Breyne, J. P.

De scriptoribus rerum naturalium Borussiae et Poloniae . . .

(In Helwing, G. A. Flora Quasimodogenita. Gedani, 1712; praef.)

Comp. Reyger, G. Tentamen Florae Gedanensis, II (1766), p. 1—24.

GERMANY — SAXONY.

Reiche, Karl.

Litteratur zur Flora des Königreichs Sachsen aus dem 19. Jahrhundert.

(In Abhandl. d. naturwiss. Gesellsch. Isis zu Dresden. 1888, Juli

—Decbr., p. 78.)

Fitting, Hans.

Geschichte der Hallischen Floristik.

(In Zeitschrift für Naturwiss. LXIX (1896), p. 289—306. — Sep.,

Leipzig 1897. — 98 p. 8°.)

Zuchold, E. A.

Uebersicht der die Stadt Halle und deren Umgegend behandelnden naturwissenschaftlichen Literatur.

(In Jahresber. des naturwiss. Vereines in Halle. 2tes Jahr. Berlin,

1850, p. 143—161. — Separate, with sep. title-page and orig. pagin.)

GERMANY — SCHLESWIG-HOLSTEIN.

Fischer-Benzon, Rudolph J. D. von.

Geschichte der floristischen Erforschung des Gebietes [Schleswig-Holstein. Hamburg und Lübeck.]

(In Kritische Flora der Provinz Schleswig-Holstein, der angrenzenden

Gebiete der Hansestädte Hamburg und Lübeck und des Fürstentums

Lübeck. Unter Mitwirkung von R. von Fischer-Benzon und

E. H. L. Krause hrsg. von Peter Prahl. Teil II. Kiel, 1890.)

64 p., separately numbered.

Supplemented by the following:

Zur botanischen Litteratur Schleswig-Holsteins, der angrenzenden Gebiete und Helgolands. Kiel, 1891.

8°.

Lorentzen, Andreas Petersen.

Litteratur-Bericht für Schleswig-Holstein, Hamburg und Lübeck. Erstattet von A. P. Lorentzen. Kiel, 1892.

Beilage zur "Heimath", Monatsschrift des Vereins zur Pflege der Natur- und Landeskunde in Schleswig-Holstein, Hamburg und Lübeck, 1892.

Zweiter Litteratur-Bericht . . . Kiel, 1893.

Beilage zur "Heimath" . . . 1893.

Dritter Litteratur-Bericht . . . Kiel, 1894.

Beilage zur "Heimath" . . . 1894.

Vierter Litteratur-Bericht . . . Kiel, 1895.

Beilage zur "Heimath" . . . 1895.

No more published.

These reports comprise the entire scope indicated in title, including Botany, which forms Abschnitt IX in the first report, Abschnitt VII in the others.

Knuth, P.

Geschichte der Botanik in Schleswig-Holstein. Kiel und Leipzig, Lipsius & Tischer, 1892.

IV, 216 p. 8°.

GERMANY — SCHLESWIG-HOLSTEIN.

Fischer-Benzon, Rudolph J. D. von.

Mittheilungen über schleswig-holsteinische Botaniker.

(In Die Heimat, Jahrg. 5, Kiel (1895), p. 130—132.

Concerns Jean François Drège, Johannes Groenland, Carl Moritz Gottsche, and Emil Claussen.

Knuth, P.

Ein Streit Kieler Botaniker zu Anfang des vorigen Jahrhunderts.

(In Botan. Centralbl. XLI (1890), p. 305—308, 337—341.)

Contention between Waldschmidt and Siricius concerning an Aloe (Agave Americana L.).

GERMANY — SILESIA.

Partsch, J.

Litteratur der Landes- und Volkskunde der Provinz Schlesien.

(In 74. Jahresh. d. schles. Ges. für vaterl. Kultur: 1896. (1897),
Ergänzungsheft 5, p. 325—380. — Sep., Breslau, G. P. Aderholz,
1897.)

GREECE.

Halacsy, E. de.

Fontes florae graecae.

(In his Conspectus florae graecae III (1904), p. IV—X.)

GREENLAND.

*Lauridsen, P.*Bibliographia groenlandica eller Fortegnelse paa Værker, Afhandlinger og danske Manuskripter, der handle om Grønland indtil Aaret 1880 incl.
Paa Grundlag af C. G. F. Pfaffs Samlinger. København, 1890.

(Meddelelser om Grønland. 13. Hefte.)

p. 83—83: VI. Botanik.

HUNGARY.

Borbás, V.

Beiträge zur floristischen Litteratur Ungarns.

(In Oesterr. bot. Zeitschr. XXXI (1881). p. 61—62, 91—93.)

A supplement to the sources quoted by Nielreich, in his Aufzählung der in Ungarn und Slavonien beobachteten Gefäßpflanzen, Wien, 1866.

A m. t. akademia floristikai közleményei mint a Flora Romaniae kútforrása.

(In Ellenör. 1881. Nr. 277.)

A supplement to the sources quoted by Kanitz, in his Plantas Romaniae hucusque cognitae . . ., Claudioli, 1879—81.

Ernyey, J.

Slawische Beiträge in der botanischen Bibliographie Ungarns.

(In Növénytani Közlemények, III [1904], p. 173—185.)

Kanitz, A.

Geschichte der Botanik in Ungarn. Skizzen. Hannover, W. Riemschneider, 1863.

199 p. 8°.

"Gedruckt in 70 Exemplaren." — Has index of names.

Versuch einer Geschichte der ungarischen Botanik.

(In Linnaea, XXXIII (1864—1865), p. 401—664.)

These two publications are identical in scope, but the later one is the more complete.

HUNGARY.

Pax, F.

Litterarische Hilfsquellen [zur botanischen Erforschung der Karpathen].

(In his Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Karpathen, Leipzig, Engelmann, 1898, p. 1—63; and II. Theil, 1908, p. 273—281.

(Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. II.))

Payer, Hugo.

Bibliotheca carpathica. Im Auftrage des ungarischen Karpathen-Vereins zusammengestellt . . . Igló, 1880.

“. . . ein sehr vollständiges Verzeichniss auch der botanischen Litteratur über die Karpathenländer incl. des ungarischen Tieflandes. — . . . geordnet, dass der nach Fächern und Autoren gebildete Index ein Nachschlagen leicht ermöglicht.” Freyn.

Radde, Gustav.

Geschichte und Litteratur der botanischen Forschungen in den Kaukasusländern.

(In his Grundzüge der Pflanzenverbreitung in den Kaukasusländern, Leipzig, Engelmann, 1899, p. 1—22. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. III.))

Schorler, B.

Geschichte und Literatur der botanischen Erforschung im hereynischen Berg- und Hügellande.

(In Drude, O., Der hereynische Florenbezirk. Leipzig, Engelmann, 1902, p. 1—36. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. VI.))

Stefani, Carlo de, and Forsyth Major, C. J., and Barbey, William.

Karpathos. Étude géologique, paléontologique et botanique. Lausanne, George Bridel & Cie., 1895.

180 p., 15 pl. sm. fol.

“Verff. stellen zunächst eine Bibliographie für die Insel zusammen . . .”

Szinnyei, J.

Bibliotheca hungarica historiae naturalis et matheseos. 1472—1875. Budapest, Kilian, 1878.

VIII p., 1008 col. 8°.

ICELAND.

Grönlund, C. C. H.

Bidrag til Oplysning om Islands Flora.

(In Botanisk Tidsskrift IV (1870—1871), p. 147—172.)

Contains a critical list of previous publications on the flora of Iceland. — See also *ibid.* XIII (1882—1883), p. 45—78 and 83—131.)

INDIA.

King, Sir George.

The early history of Indian botany.

(In Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci.: 1899 (Dover), p. 904—919. — Reprinted in part in Journ. Bot. XXXVII (1899), p. 454—463.)

IRELAND.

Moore, Alexander Goodman, et al.

Contributions toward a Cybele hibernica. 2. ed., Dublin, Ponsonby, 1898.

p. XIX—XXXVI: Alphabetical list of the principal books, papers, mss., and herbaria relating to the flora of Ireland.

IRELAND.

Praeger, Robert Lloyd.

Irish topographical botany. Dublin, Published at the [Royal Irish] Academy House, 1901.

CLXXXVIII, 410 p., 6 pl. (maps).

(Proceed. Roy. Irish Acad. 3. ser., vol. VII.)

Bibliography of Irish topographical botany, p. CV—CXLVII. —

Includes publications until the end of 1900.

Irish topographical botany: Supplement 1901—1905.

(In Proceed. Roy. Irish Acad. XXVI (March, 1906), Section B, p. 13—45.) — This paper forms No. 2 of section B of Vol. XXVI and was issued also separately (Dublin, Hodges, Figgis & Co.), but without separate pagination.

Bibliography, p. 41—45.

Note. "In the year 1902 it was resolved to number in consecutive order the volumes of the Proceedings of the Academy," — hence the seeming incongruency of the above quotations. Ser. 3, vol. VII would, in the new arrangement, correspond to vol. XXIII.

ITALY.

Saccardo, Pier'Andrea.

La botanica in Italia. Materiali per la storia di questa scienza. [Parte I] Venezia, Tipogr. di C. Ferrara, 1895.

(Mem. del R. Ist. veneto di sci., lett. ed arte XXV, no. 4.)

236 p. fol.

Contents: Repertorio biografico e bibliografico dei botanici italiani, aggiuntivi gli stranieri che trattarono della flora italiana. 2. Indice dei floristi d'Italia, disposti secondo le regioni esplorate. 3. Cenni storici e bibliografici degli orti botanici pubblici e privati. 4. Quadro cronologico dei principali fatti botanici, ne' quali gli italiani furono precursori.

— Parte II. Venezia, Tipogr. di C. Ferrara, 1901.

(Mem. del R. Ist. veneto di sci., lett. ed arte XXVI, no. 6.)

XV, 172 p. fol.

Contents: 1. Prefazione. 2. Quadro cronologico dei principali fatti botanici nei quali gli italiani furono precursori o scopritori. 3. Prospetto degli instauratori della flora italiana. 4. Repertorio biografico e bibliografico supplementare dei botanici italiani, aggiuntivi gli stranieri che trattarono della flora italiana. 5. I floristi d'Italia. 6. Cenni storici e bibliografici supplementari degli orti botanici pubblici e privati d'Italia. 7. Lettere d'alcuni naturalisti veneti intorno agli erbari.

Both parts issued separately in 100 copies.

Contribuzioni alla storia della botanica italiana.

(In Malpighia, VIII (1894), p. 476—539.)

Contents: I (p. 477—529): Cenni storici e bibliografici degli orti botanici pubblici e privati d'Italia. II (p. 530—539): I floristi d'Italia.

Traverso, Giovanni Battista, ed.

Bulletino bibliografico della botanica italiana. Anno primo: 1904. Firenze, Stab. Pellas, 1904.

1 l., VIII, 80 p. 8°.

Published by the Società botanica italiana. — Cf. Traverso, G. B., Per un "repertorio della bibliografia botanica italiana" (In Bull. Soc. bot. ital., 1904, p. 42—45.). Classified.

ITALY.

Traverso, Giovanni Battista.

Bulletino bibliografico della botanica italiana. Anno secondo: 1905. Firenze. Stab. Pellas, 1905.

1 l., p. 81—154. 8°. Also paged in brackets: [1]—[76].

Bulletino bibliografico della botanica italiana. Anno terzo: 1906. Firenze, 1906.

1 l., p. 157—218. 8°. Also paged in brackets: [1]—[64].

Bertoloni, A.

Sopra la storia e i progressi della botanica insulare italiana.

(In *Annali di stor. nat.*, 1829, p. 1, 239.)

Caruel, T.

Elenco delle opere sulla flora italiana.

(In his *Flora italiana*, vol. VIII (1888), with Appendice, in vol. IX (1889).)

Henckel von Donnersmarck, Leo Victor Felix, Graf.

Uebersicht der neuesten italienischen Litteratur.

(In *Flora*, 1820, I, Beilage, p. 1—32.)

[Supplements]:

(*Ibid.*, 1820, II, p. 720.)

(*Ibid.*, 1823, II, Beilage, p. 98—101.)

[Supplement, by Georg von Martens]:

(*Ibid.*, 1827, II, Beilage, p. 87—93.)

Mattiolo, O.

Come si avrebbe una bibliografia botanica italiana; un bollettino annuale delle novità floristiche e bibliografiche; e come si potrebbe completare la Iconoteca dei botanici italiani. Lettera aperta al Prof. P. A. Saccardo.

(In *Malpighia* XIII (1899), p. 257—262.)

Pasquale, Fortunato.

Bibliografia botanica riguardante la flora della piante vascolari delle provincie meridionali d'Italia.

(In *Nuovo giorn. bot. Ital.* Nuovo ser., vol. I (1894), p. 259—270.)

Prima aggiunta alla bibliografia della flore vascolare delle provincie meridionali d'Italia.

(In *Boll. Soc. bot. ital.*, 1897, p. 19—22.)

Seconda aggiunta alla bibliografia delle Flore vascolare delle provincie meridionale d'Italia.

(In *Boll. Soc. bot. ital.*, 1901, p. 238—244.)

Terza aggiunta alla bibliografia delle flore vascolare delle provincie meridionali d'Italia.

(In *Annali di botanica*. IV (1906), p. 133—137.)

Schoenberg, A.

Ueber die botanische Litteratur des Königreichs Beider Sicilien in der neuesten Zeit.

(In *Linnaea*, 1827, p. 612—631.)

ITALY — TOSCANA.

Caruel, T.

Statistica botanica della Toscana ossia saggio di studi sulla distribuzione geografica delle piante Toscane. Turin, Löschner, 1871.

Gli esploratori della flora toscana: p. 22—36.

ITALY — ROME.

Pirotta, Romualdo, and Chiovenda, Emilio.

Flora romana. Parte prima. Bibliografia e storia.

(In Annuario del Istituto botanico, Roma, 1901, p. 145—304.)

ITALY — SICILY.

Cannarella, P.

Saggio di bibliografia floristica della Sicilia e delle isole adiacenti.

(In Nuovo giorn. botan. ital. n. s. XV (1908), p. 93—178.)

785 entries.

ITALY — VENICE.

Saccardo, Pier'Andrea.

Della storia e letteratura della flora veneta sommario. Milano, Valentiner, 1869.

X, 208 p. 8°.

JAPAN.

Erndl, C. H.

De Flora japonica, codice bibliothecae regiae Berolinensis rarissimo, epistola ad Johannem Philippum Breynium. Dresdae, typ. Riedel, 1716.

14 p. 4to.

Döderlein, L.

Botanische Mittheilungen aus Japan. — 1. Ueber botanische Litteratur in Japan . . .

(In Bot. Centralbl. VIII (1881), p. 27—31.)

Dickins, F. V.

The progress of botany in Japan.

(In Journal of Bot. XXV (1887), p. 147—148.)

Ito Tokutaro.

On the history of botany in Japan.

(In Journal of Bot. XXV (1887), p. 225—229; port.)

Matsumura, T.

Shokubutsu-Mei-i. Enumeration of selected scientific names of both native and foreign plants, with romanized Japanese names, and in many cases Chinese characters. Tokyo, The Maruzen-Kabushiki-Kwaisha, 1895.

321 p. 8°.

"The titles of Japanese botanical works of former times" are found in this work. — Miyoshi.

cf. Mittheil. d. Deutschen Gesellsch. f. Natur- u. Völkerkunde Ostasiens I, Heft 4, p. 37—41; II, p. IV.

Murr, Christoph Gottlieb von.

Beyträge zur Naturgeschichte von Japon und Sina.

(In Der Naturforscher, 7. Stück (1775), p. 1—51.)

"De libris japonicis et sinensibus ad historiam naturalem." — Dryander.

✓ *Siebold, P. F. von.*

Einige Worte über den Zustand der Botanik auf Japan . . .; nebst einer Monographie der Gattung Hydrangea und einigen Proben japanischer Litteratur über die Kräuterkunde.

(In Nova acta physico-medica Acad. Caesar-Leop-Carol., tom. XIV (1829), pars II, p. 671—696; 2 pl.

Litteraturae botanices japonicae specimen. Decas I: p. 693—696. — Describes ten botanical works of early and later dates.

JAPAN.

Siebold, P. F. von.

Catalogus librorum et manuscriptorum Japonicorum a Ph. F. de Siebold collectorum, annexa enumeratione illorum, qui in Museo regio Hayano servantur. Libros descripsit J. Hoffmann. Accedunt tabulæ lithogr. XVI. Lugduni-Batavorum, 1845, fol.

JAVA.

Junghuhn, F. W.

Java seine Gestalt, Pflanzendecke und innere Bauart. Nach der zweiten, verbesserten Auflage des holländischen Originals in's Deutsche übertragen von J. K. Hasskarl. Zweite Ausgabe, Abtheilung I. Leipzig, Arnold, 1857. p. 133—148: Verzeichniss der Literatur über die Flora . . . von Java mit erläuternden Bemerkungen.

KAUKASUS.

Lipsky, W.

Flora des Kaukasus.

(In Acta horti Tiflensis IV, p. 1—584.)

Contains a bibliography of the flora of that region: p. 1—116. — "Verf. giebt zunächst eine vollständige Uebersicht der Werke, welche über die kaukasische Flora Auskunft geben. Dieses Verzeichniss enthält 396 Werke, über deren Inhalt Verf. kurze Referate giebt." — Fedtschenko.

MADEIRA.

Vahl, M.

Benyttet Litteratur [om Madeiras Vegetation].

(In his Madeiras Vegetation, geografisk Monografi. Köbenhavn, Gyldendalske Bogh., Nordisk Forlag, 1904, p. 161—171.)

MEXICO.

León, N.

Biblioteca botánico-mexicana. Catalogo bibliografico, biografico y critico de autores y escritos referentes a vegetales de Mexico y sus aplicaciones, desde la conquista hasta el presente. Suplemento a la Materia médica Mexicana publicada por el Instituto médico nacional. México, Oficina tip. de la Secretaría de fomento, 1895.

372 p.

See also Central America.

NETHERLANDS.

Oudemans, C. A. T. A.

De ontwikkeling onzer kennis angaande de Flora van Nederland uit de bronnen geschetst en kritisch toegelicht.

(In Nederlandsch Kruidk. Arch. 2. Ser., Deel II (1877), p. 214—319; Deel III (1878—1881), p. 1—75, 325—398. — Sep., with sep. pagin.: [I]: 1—64; II: 1—113; [III]: 1—75; [IV]: 1—74.)

Part [I] contains: Chronologisch overzicht van werken, welke tot de flora van Nederland in eenigerlei betrekking staan. — The remainder of the work consists of commentaries to the works of the early writers, and a summary of their floristic work in Holland.

Nederlandsch Aardrijkskundig Genootschap.

Algemeene aardrijkskundige bibliographie van Nederland. Uitgegeven door de afdeeling „Nederland“ van het Nederlandsch Aardrijkskundig Genootschap . . . Leiden, E. J. Brill, 1888—89.

NETHERLANDS.

Nederlandsch Aardrijkskundig Genootschap.

Tweede deel. Natuurskundige toestand. 1888. Contains p. 93—128: Flora. Prefatory remarks signed by T. G. Boerlage. A classified list of references to books and articles in periodicals, concerning the flora of the Netherlands, containing also a carefully prepared collation of the *Nederlandsch Kruidkundig Archief* 1846—1885.

Knuttel, S.

Bericht über die Leistungen im Gebiete der Botanik im Königreich der Niederlande während des Jahres 1863.

(In *Flora*, 1864, p. 113—120, 458—462, 471—474; 1865, p. 161—167.)

No previous annual reports. In later years, reports covering the years 1871, 1872 and 1873 have been compiled by de Vries, q. v.

Vries, Hugo de.

Bericht über die im Jahre 1871 in den Niederlanden veröffentlichten botanischen Untersuchungen.

(In *Flora*, 1873, p. 2—7, 23—30, 37—44.)

Bericht . . . 1872 . . .

(*Ibid.*, p. 49—58.)

Bericht . . . 1873 . . .

(*Ibid.*, 1874, p. 44—48, 49—55, 65—69.)

The only previous annual report covers the year 1863 and was compiled by Knuttel, q. v.

Bergsma, C. A.

Lijst der werken waarin onze inlandsche planten als zoodanig opgegeven en beschreven zijn.

(In *Konst- en Letterbode*. 1834. I, No. 2, p. 23—26.)

Brief aan den Redakteur van den *Konst- en Letterbode*.

(*Ibid.*, No. 8, p. 114—116; No. 14, p. 212—215.)

See also Miquel, F. W. A.

Martinet, J. F.

Antwoord op de vraag . . . : Wat is 'er tot nu toe over de natuurlyke historie van ons vaderland geschreeven? . . .

(In *Verhandel.*, *Holl. Maatsch. der Weetensch.*, Haarlem. 11 Deel, 2. stuk (1769), p. 61—326.)

Full title as given under Nozeman, Cornelius.

Has running title: "II. antw. Schriften over de / Natuurl. historie van het vaderland."

Miquel, F. W. A.

Jets over de Litteratuur onzer inlandsche Flora.

(In *Konst- en Letterbode* (1834) I, No. 3, p. 57—59; No. 5, p. 80.)

Brief aan den Redakteur van den *Konst- en Letterbode*.

(*Ibid.*, No. 13, p. 196—197.)

See also Bergsma, C. A.

Nozeman, Cornelius.

Antwoord op de vraag, voorgesteld door de Hollandsche Maatschappye der Weetenschappen: Wat is 'er tot nu toe over de natuurlyke historie van ons vaderland geschreeven? Wat ontbreekt 'er nog aan? En, welke is de beste wyze, waarop de gemelde geschiedenis zoude dienen geschreeven te worden? Aan welks schreyver, die bevonden is te zyn . . .

NETHERLANDS.

Nozeman, Cornelius.

(In Verhandel. Holl. Maatsch. der weetensch., Haarlem. 11 Deel, 2 stuk (1769), p. 1—60.)

Has running title: "I. antw. Schriften over de / Natuurl. historie van het vaderland."

See also Martinet.

NORWAY.

Wikström, Johannes Emanuel.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter uti Norrige för år 1826.

(In his Årsberättelse om framstegen i botanik för år 1826, p. 239—286.)

Botanikens framsteg uti Norrige ifrån äldre tider till den närvarande: p. 239—251.

Öfversigt . . . för år 1827.

(Ibid. . . . 1826, p. 309—357.)

Öfversigt . . . för år 1828.

(Ibid. . . . 1827, p. 264—268.)

Öfversigt . . . för år 1829.

(Ibid. . . . 1829, p. 184—185.)

Öfversigt . . . för år 1830.

(Ibid. . . . 1830, p. 275—297.)

Öfversigt af norrska botaniska arbeten och upptäckter för år 1831.

(Ibid. . . . 1831, p. 336—344.)

No report for 1832.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter i Norrige under år 1833.

(Ibid. . . . 1833, p. 255—264.)

No report for 1834.

Öfversigt . . . under år 1835.

(Ibid. . . . 1835, p. 496—566.)

No report for 1836.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter i Norrige för år 1837.

(Ibid. . . . 1837, p. 538—588.)

Öfversigt . . . i Norrige år 1838.

(Ibid. . . . 1838, p. 472—490.)

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter i Norrige under åren 1839, 1840, 1841 och 1842.

(Ibid. . . . 1839—1842, p. 757—823.)

Öfversigt . . . under åren 1843 och 1844.

(Ibid. . . . 1843—1844, p. 726—735.)

Öfversigt af norska botaniska arbeten utgifna under åren 1845—1848.

(Ibid. . . . 1845—1848, p. 851—864.)

No report for 1849 and 1850.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter i Norrige under år 1851.

(Ibid. . . . 1851, p. 297—312.)

Blytt, Axel.

Norsk botanisk litteratur 1859—64.

(In Bot. Notiser, 1865, p. 103.)

— — — 1865.

(Ibid., 1866, p. 81.)

— — — 1866.

(Ibid., 1867, p. 124.)

NORWAY.

Blytt, Axel.

Norsk botanisk litteratur 1867.

(Ibid., 1868, p. 144.)

Norsk botanisk Litteratur for Aarene 1868—70.

(Ibid., 1871, p. 101—102.)

Wille, N.

Norsk botanisk Litteratur 1871—79.

(Bot. Notiser, 1881, p. 27—32.)

— — — 1880.

(Ibid., 1881, p. 102.) Sep., Lund 1881. — p. 102. 8°.

Norsk botanisk Litteratur 1881 og 1882.

(Ibid., 1883, p. 59—62.)

Norsk botanisk Litteratur 1883—1891.

(Ibid., 1892, p. 72—86.) Sep. [Lund], 1892. — p. 72—86. 8°.

— — — 1891—1900.

(Ibid., 1902, p. 49—74.) Sep. [Lund], 1902. — p. 49—74. 8°.

Holmboe, Jens.

Norsk botanisk litteratur 1901—1905.

(In Botan. Notiser, 1906, p. 257—275.) Sep. [Lund], 1906. — p. 257—275. — 8°.

POLAND.

Majer, J.

Literatura fizyografii ziemi polskiej.

(In Rocznik Towarzystwa naukowego [= Jahrbücher der Krakauer wiss. Gesellschaft] XXX (Krakau 1862), p. 49—234.)

Valuable also for botanical purposes. Includes period to 1861.

Rothert, Władysław.

Bericht über die Fortschritte der Botanik in Polen in den Jahren 1882—1884.

(In Botan. Centralbl. XXVII (1886), p. 345—358; XXVIII (1886), p. 21, 49—53, 113—114.)

Extracted from Sprawozdania z piśmiennictwa naukowego polskiego w dziedzinie nauk matematycznych i przyrodniczych [Annual report on the Polish scientific literature on the subjects of mathematics and natural science]. "Es sind davon bisher [i. e., until 1886] 3 Bände erschienen, die Jahre 1882—1884 incl. umfassend."

Raciborski, M.

Piśmiennictwo botaniczne Polaków w latach 1902 i 1903. (La littérature botanique polonaise dans les années 1902 et 1903.)

(In Kosmos, r. XXIX (1904). — Sep., with sep. cover. Lwów, Nakładem polskiego Towarzystwa przyrodników im. Kopernika, 1904. — 30 p. 8°.)

Nasze piśmiennictwo botaniczne w roku 1904.

(Ibid., r. XXXI (1906). — Sep., Lwów, 1906. — [185] — 202. 8°.)

Romer, Eugeniusz.

Liste des travaux relatifs à la physiographie de la Pologne.

(Kosmos, Lwów. Vol. 17 (1902), p. 187—226, 302—334, 407—507.)

Spis prac odnoszacych się do fizyografii ziem polskich za lata 1901—1902.

(In Kosmos, r. XXX (1905), p. 19—106.)

POLAND.

Romer, Eugeniusz.

Spis prac odnoszacych się do fizyografii ziem polskich za lata 1903, 1904 i 1905.

(In Kosmos, r. XXXI (1906). — Sep., Lwów, 1906. — p. 1—166.)

Chapter V. Flora (Nr. 1358—1664): p. 88—106.

PORTUGAL.

Lemos, M.

Historia da botanica em Portugal.

(In Revista da Socied. de instrucção do Porto, red. p. J. de Vasconcellos. Anno III (1883), no. 1—3.)

RUSSIA.

Herder, F. von.

Fontes florae rossicae; cf. Ledeb. fl. ross. vol. I, pag. VII—XVI, ejusdem vol. II, pars 2, pag. III—VI, continuatio 1846—1879.

(In Bot. Centralbl. V (1881), p. 155—158, 185—188, 220—222, 281—284, 316—318, 346—348, 385—388; VI (1881), p. 31—34, 63—67, 137—138, 176—178, 245—247, 277—296, 324—329.)

More comprehensive than Trautvetter, Florae rossicae fontes, but not annotated.

Die Flora des europäischen Russlands.

(In Bot. Jahrbücher, XIV (1892), p. 1—165.)

Bibliography, p. 4—7.

Biographische Notizen über einige in den Plantae Raddeanae genannte Sammler und Autoren.

(In Bot. Jahrbücher, IX (1888), p. 429—456.)

Uebersicht über die botanische beschreibende Litteratur und die botanischen Sammlungen des kaiserlichen botanischen Gartens in St. Petersburg, nach den Gouvernements und Gebieten des europäischen und asiatischen Russlands zusammengestellt.

(In Botan. Centralbl. 58 (1894), p. 385—392.)

Trautvetter, E. R. von.

✓ Grundriss einer Geschichte der Botanik in Bezug auf Russland. St. Petersburg, Druckerei der Akademie der Wissenschaften, 1837.

145 p. 8°.

✓ Florae rossicae fontes.

(In Acta Horti Petrop. Tom. VII (1880), p. 1—341.)

1656 entries. Annotated. Less comprehensive than Herder, Fontes florae rossicae.

Continued in mss. by the author, until his death, and afterwards by F. von Herder; cf. Botan. Centralblatt 58 (1894), p. 385—6 (note). The publication of these continuations, as planned by Herder, has not occurred.

Schriften botanischen Inhalts, welche in Beziehung zur Flora oder zu den Botanikern Russlands stehen.

(In his Grundriss einer Geschichte der Botanik in Bezug auf Russland. St. Petersburg, 1837, p. 55—145.)

Systematically arranged, containing both independent publications and articles in periodicals. Carefully annotated.

RUSSIA.

Montrésor, Bourdeille, Comte de.

Die Quellen der Flora derjenigen Gouvernements, welche den Lehrbezirk von Kieff bilden, d. h. der Gouvernements Kieff, Wollhynien, Podolien, Tschernigoff und Pultawa.

(In Bull. Soc. imp. des nat. de Moscou, n. s. VI (1892—93), p. 322—381: VII (1893—94), p. 420—496.)

Borodin, Ivan Porfirevich.

Noveichie usspechi botaniki 1877—1879 [= Die neuesten Fortschritte der Botanik 1877—1879]. St. Petersburg, 1880.

180 p. 8°.

See also Famintzin.

Famintzin, Andrei Serghyeevich, 1835 —

Uebersicht der Leistungen auf dem Gebiete der Botanik in Russland während des Jahres 1890. Zusammengestellt von A. Famintzin unter Mitwirkung von D. Iwanowsky, N. Kusnezow, Fürst W. Massalsky und W. Transchel. Aus dem Russischen übersetzt. St. Petersburg, Commissionäre der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften: in St. Petersburg: Eggers & Co. und J. Glasunow; in Riga: N. Kymmel; in Leipzig: Voss' Sortiment (G. Haessel), 1892.

X, XXIV, 173 p. 8°.

Uebersicht der Leistungen auf dem Gebiete der Botanik in Russland während des Jahres 1891. Zusammengestellt von A. Famintzin unter Mitwirkung von J. Borodin, F. Elfving, D. Iwanowsky, A. Kihlman, N. Kusnezow, Fürst W. Massalsky, S. Nawaschin, W. Polowzow und S. Tanfiljew. Aus dem Russischen übersetzt. St. Petersburg, Commissionäre der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften: in St. Petersburg: Eggers & Co. u. J. Glasunow; in Riga: N. Kymmel; in Leipzig: Voss' Sortiment (G. Haessel), 1893.

XXIX, 249 p. 8°.

294.

Uebersicht über die Leistungen auf dem Gebiete der Botanik in Russland während des Jahres 1892. Zusammengestellt von A. Famintzin und S. Korschinsky unter Mitwirkung von J. Borodin, D. Iwanowsky, A. Kihlman u. A. Aus dem Russischen übersetzt von F. Th. Koeppen. St. Petersburg, Commissionäre der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften: in St. Petersburg: Eggers & Co. und J. Glasunow; in Riga: N. Kymmel; in Leipzig: Voss' Sortiment (G. Haessel), 1894.

XXX, 213 p. 8°.

Obzor Botanicheskoi Dreyatel'nosti v Rossii za 1893 ghod Sostavlennoi . . . A. Famintzinom [= Uebersicht über die Leistungen auf dem Gebiete der Botanik in Russland in 1893]. St. Petersburg, . . ., 1895.

XXI, 166 p. 8°.

In Russian. Did not appear in German translation.

Kuznetsov, N. J.

Obzor rabot po fito-geografii rossii 1891 g. S.-Petersburg, Parovaia Skoropechatnia P. O. Jabdonskago, 1894.

44 p. 8°.

— 1892—93 gg.

81 p. 8°.

— 1894 g.

57 p. 8°.

— za 1895 i 1896 gg.

84 p. 8°.

RUSSIA.

Kuznetsov, N. J.

In German, in condensed form:

Übersicht der im Jahre 1889 über die Phytogeographie Russlands erschienenen Arbeiten.

(In Botan. Jahrb. XIV (1892), Litteraturbericht, p. 25—37.)

Übersicht der im Jahre 1890 über Russland erschienenen phyto-geographischen Arbeiten.

(Ibid., XV (1893), Litteraturbericht, p. 64—94.)

Übersicht der in den Jahren 1891—94 über Russland erschienenen phyto-geographischen Arbeiten.

(Ibid., XXII (1897), Litteraturbericht, p. 24—44; XXIV (1898), Litteraturbericht, p. 58—80; XXVI (1899), Litteraturbericht, p. 16—42, 74—97; XXIX (1901), Litteraturbericht, p. 5—21.)

Fedtschenko, Boris, e d.

Aperçu bibliographique de tous les travaux concernant la flore russe parus en 1904.

85 p. 8°.

(In Bulletin Jard. Imp. Bot. de St. Pétersbourg, Tome V (1905), Supplément.)

✓Aperçu . . . parus en 1905.

106 p. 8°.

(Ibid. Tome VI (1906), Supplément.)

SOUTH AMERICA.

Diels, L.

Bericht über die Fortschritte in der Kenntniss der Flora Mittel- und Süd-amerikas nach der Litteratur von 1896 und 1897.

(In Bot. Jahrb. XXVI (1899), Litteraturbericht, p. 58—65.)

SOUTH AMERICA — BRAZIL.

Urban, J.

Vitae itinerariae collectorum botanicorum, notae collaboratorum biographicae, florae brasiliensis ratio edendi chronologica, systema, index familiarum.

(In Flora Brasiliensis Vol. I pars I (1840—1906) [separ. pagin. (col.) 1—268.]

A valuable collection of bio-bibliographical data.

SOUTH AMERICA — CHILE.

Neger, F. W.

Litteraturübersicht über die in den Jahren 1895—99, die Floren von Chile und Patagonien betreffend, veröffentlichten Arbeiten.

(In Botan. Jahrb. XXVII (1900), Litteraturbericht, p. 17—36.)

Philippi, F.

Autores mas importantes que se han ocupado de la flora chilena.

(In his Catalogus plantarum vascularium Chilensium, Santiago de Chile, Imp. Nacional, 1881, p. VI—VIII.)

Reiche, Karl.

Bibliographie der chilenischen Flora. Literatur, Karten, Sammlungen.

(In his Grundzüge d. Pflanzenverbreitung in Chile. Leipzig, Engelmann, 1907, p. 27—47. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. VIII.)

SOUTH AMERICA — ARGENTINE REPUBLIC.

Kurtz, F.

Essai d'une bibliographie botanique de l'Argentine.

(In Bol. de la Acad. nac. de cienc. de Cordoba XVI (1900), p. 117—126.)

SPAIN.

Colmeiro, Miguel.

La botánica y los botánicos de la península Hispano-Lusitana. Estudios bibliográficos y biográficos. Madrid, Impr. de Rivadeneyra, 1858.

XI, 216 p. lex. 8°.

The first part contains the (classified) bibliography; the second, the biographical notes.

A brief, but sufficient note is given to this book by Pritzel: "Liber vere egregius!"

Examen historico-critico de los trabajos concernientes a la flora hispano-lusitana. Madrid, 1870.

86 p. lex. 8°.

Malinvaud, E.

Un coup d'œil sommaire sur la littérature botanique pyrénéenne: Bubani et son Flora pyrenaea.

(In Bull. Soc. bot. France LV (1908), p. XLIV—LIV.)

Quer y Martinez, Joseph.

Catálogo de los autores Españoles, que han escrito de historia natural.

(In his Flora Española, Madrid, J. Ibarra (1762—1784); vol. II (1762), p. 105—128.

SPAIN — BALEARIC ISLANDS.

Marès, P., et Vigineix, G.

Catalogue raisonné des plantes vasculaires des îles Baléares. Paris, Masson, 1880.

The introduction contains a carefully prepared, annotated bibliography of the flora of the Balearic Islands.

SPAIN and PORTUGAL.

Willkomm, M.

Geschichte und Litteratur der botanischen Erforschung der iberischen Halbinsel.

(In his Grundzüge der Pflanzenverbreitung auf der iberischen Halbinsel, Leipzig, Engelmann, 1896, p. 1—27. (Die Vegetation der Erde, hrsg. von A. Engler u. O. Drude. I.))

SWEDEN.

Warmholtz, C. G.

Bibliotheca historica sveo-gothica; eller Förtekning uppå så väl tryckte, som handskrifne böcker, tractater och skrifter, hvilka handla om svenska historien . . . Andra delen, som innehåller de böcker och skrifter, hvilka angå Sveriges natural-historia. Stockholm, tr. hos A. J. Nordström, 1783.

XXII, 141, 9 p. 8°.

p. 24—40: Sectio III: Förtekningar och beskrifningar öfver gräs, örter, träd m. m., som växa i Sverige . . .

Holmström, Joh. Aug.

Utkast till svenska florans litteratur-historia.

(In Botan. Notiser, 1849, p. 105—121, 156—163. — Sep., Stockholm, tryckt hos Joh. Beckman, 1849. — (2), 16 p. 8°.)

Fragment of a history of botany in Sweden, designed to cover the pre-linnean period.

Wikström, Johann Emanuel.

Conspectus litteraturae botanicae in Suecia ab antiquissimis temporibus usque ad finem 1831, notis bibliographicis et biographiis auctorum adjectis. Holmiae, excudebant P. A. Nordstedt et filii, 1831.

XLIX, 341 p. 8°.

SWEDEN.

Wikström, Johann Emanuel.

Invaluable for Swedish botanical literature and significant of an unusual sense of bibliographical exactness coupled with botanical insight. Of permanent value.

Wikström, Johannes Emanuel.

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter uti Sverige för år 1826.

(In his Årsberättelse om framstegen i botanik för år 1826, p. 164—238.)

Öfversigt af svenska botaniska arbeten och upptäckter för år 1827.

(Ibid. . . . 1826, p. 257—308.)

Öfversigt . . . för år 1828.

(Ibid. . . . 1828, p. 227—263.)

Öfversigt . . . för år 1829.

(Ibid. . . . 1829, p. 154—183.)

Öfversigt . . . för år 1830.

(Ibid. . . . 1830, p. 225—274.)

Öfversigt . . . för år 1831.

(Ibid. . . . 1831, p. 259—335.)

Öfversigt . . . för år 1832.

(Ibid. . . . 1832, p. 276—291.)

Öfversigt . . . för år 1833.

(Ibid. . . . 1833, p. 210—254.)

Öfversigt . . . för år 1834.

(Ibid. . . . 1834, p. 169—185.)

Öfversigt . . . för år 1835.

(Ibid. . . . 1835, p. 411—484.)

Öfversigt . . . för år 1836.

(Ibid. . . . 1836, p. 417—474.)

Öfversigt . . . för år 1837.

(Ibid. . . . 1837, p. 469—531.)

Öfversigt . . . för år 1838.

(Ibid. . . . 1838, p. 405—466.)

Öfversigt af svenska botaniska arbeten och upptäckter för åren 1839, 1840, 1841 och 1842.

(Ibid. . . . 1839—1842, p. 493—730.)

Öfversigt . . . för åren 1843 och 1844.

(Ibid. . . . 1843—1844, p. 605—722, 735—736.)

Öfversigt . . . under åren 1845, 1846, 1847 och 1848.

(Ibid. . . . 1845—1848, p. 807—843.)

Öfversigt . . . för år 1849.

(Ibid. . . . 1849, p. 298—434.)

Öfversigt . . . för år 1850.

(Ibid. . . . 1850, p. 335—395.)

Öfversigt af botaniska arbeten och upptäckter i Sverige under år 1851.

(Ibid. . . . 1851, p. 248—296.)

Öfversigt . . . under år 1852.

(Ibid. . . . 1852, p. 208—244.)

Öfversigt af svenska botaniska arbeten och upptäckter under åren 1853 och 1854.

(Ibid. . . . 1853—1854, p. 235—275.)

SWEDEN.

Krok, Th. O. B. N.

Inom Sverige utkommen botanisk literatur. År 1859—64.

(In Botaniska Notiser 1865, p. 59—69, 85—86.)

I utlandet 1859—64 utkommen botanisk literatur af svenska författare.

(Ibid., 1865, p. 87—88.)

These two papers were issued together, as separates, under the following title: Svensk botanisk literatur 1859—64. Upsala, [1865]. — 15 p. 8°. — Supplement in Bot. Notiser 1866, p. 64.

Svensk botanik literatur 1865.

(Ibid., 1866, p. 60—64; supplement p. 79—80, footnote.)

— — — 1866.

(Ibid., 1867, p. 121—124.)

— — — 1867.

(Ibid., 1868, p. 140—144.)

— — — 1868.

(Ibid., 1871, p. 31—35.)

— — — 1869.

(Ibid., 1871, p. 57—60.)

The latter two were issued together, as a separate, without separate title. Lund, Berlingska Boktr., 1871. — 8 p. 8°.

— — — 1870.

(Ibid., 1872, p. 59—62.) Sep., Lund, 1872. — 3 p. 8°.

— — — 1871.

(Ibid., 1873, p. 15—19.) Sep., Lund, 1873. — 3 p. 8°.

— — — 1872.

(Ibid., 1873, p. 136—140.) Sep., Lund, 1873. — 5 p. 8°.

— — — 1873.

(Ibid., 1874, p. 170—174.) Sep., Lund, 1874. — 4 p. 8°.

— — — 1874.

(Ibid., 1875, p. 153—157.) Sep., Lund, 1875. — p. 1—5. 8°.

— — — 1875.

(Ibid., 1876, p. 118—122.) Sep., Lund, 1876. — 4 p. 8°. — Unpaged.

— — — 1876.

(Ibid., 1877, p. 182—188.) Sep., Lund, 1877. — p. 1—6. 8°.

— — — 1877.

(Ibid., 1878, p. 155—160.) Sep., Lund, 1878. — p. 155—160. 8°.

— — — 1878.

(Ibid., 1879, p. 163—165, 191—196.) Sep., [Lund, 1879]. — p. 1—7. 8°.

— — — 1879.

(Ibid., 1880, p. 123—130.) Sep., [Lund, 1880]. — p. 123—130. 8°.

— — — 1880.

(Ibid., 1881, p. 159—166.) Sep., Lund, 1881. — p. 1—8. 8°.

— — — 1881.

(Ibid., 1882, p. 147—154.) Sep., Lund, 1882. — p. 1—7. 8°.

— — — 1882.

(Ibid., 1883, p. 222—230.) Sep., Lund, 1883. — p. 1—9. 8°.

— — — 1883.

(Ibid., 1884, p. 129—137.) Sep., Lund, 1884. — p. 129—137. 8°.

— — — 1884.

(Ibid., 1885, p. 131—141.) Sep., Lund, 1885. — p. 1—11. 8°.

— — — 1885.

(Ibid., 1886, p. 182—187, 220—224.) Sep., [Lund, 1886]. — p. 1—10. 8°.

SWEDEN.

Krok, Th. O. B. N.

Svensk botanik literatur 1886.

(Ibid., 1887, p. 238—239, 274—282.) Sep., [Lund], 1887. — p. 1—9. 8°.

— — — 1887.

(Ibid., 1888, p. 263—272.) Sep., Lund, 1888. — p. 1—10. 8°.

— — — 1888.

(Ibid., 1889, p. 171—175, 211—218.) Sep., [Lund], 1889. — p. 1—11. 8°.

— — — 1889.

(Ibid., 1890, p. 276—286.) Sep., [Lund, 1890]. — p. 1—11. 8°.

— — — 1890.

(Ibid., 1891, p. 257—266.) Sep., [Lund], 1891. — p. 1—10. 8°.

— — — 1891.

(Ibid., 1892, p. 209—220.) Sep., [Lund], 1892. — p. 1—11. 8°.

— — — 1892.

(Ibid., 1893, p. 201—210.) Sep., [Lund], 1893. — p. 1—10. 8°.

— — — 1893.

(Ibid., 1894, p. 175—179, 211—218.) Sep., [Lund] 1894. — p. 1—10. 8°.

— — — 1894.

(Ibid., 1895, p. 219—230.) Sep., Lund, 1895. — p. 1—12. 8°.

— — — 1895.

(Ibid., 1896, p. 237—247.) Sep., [Lund], 1896. — p. 1—11. 8°.

— — — 1896.

(Ibid., 1897, p. 173—184.) Sep., Lund, 1897. — p. 1—12. 8°.

— — — 1897.

(Ibid., 1898, p. 225—238.) Sep., Lund, 1898. — p. 1—14. 8°.

— — — 1898.

(Ibid., 1899, p. 177—188.) Sep., Lund, 1899. — p. 1—12. 8°.

— — — 1899.

(Ibid., 1900, p. 145—157.) Sep., Lund, 1900. — p. 1—13. 8°.

— — — 1900.

(Ibid., 1901, p. 237—248.) Sep., Lund, 1900. — p. 1—13. 8°.

— — — 1901—1905.

(Ibid., 1906, p. 169—210.)

— — — 1906 jämte tillägg.

(Ibid., 1907, p. 209—223.)

SWEDEN — BLEKINGE.

Svanlund, F.

Förteckning öfver botanisk literatur rörande Blekinge, som hittills är utkommen, uppställd i kronologisk ordningsföljd.

(In Bot. Notiser, 1888, p. 198—200, 281.)

SWEDEN — VÄSTERGÖTLAND.

Rudberg, Aug.

Exkursioner på området af botanisk litteratur rörande Västergötland.

(In Botan. Notiser 1906, p. 85—92.)

SWITZERLAND.

Fischer, Ed.

Flora helvetica 1530—1900. Bern, K. J. Wyss, 1901.

XVIII, 241 p. 8°.

(Added title-page: Bibliographie der schweizerischen Landeskunde ... hrsg. von der Centralkommission für schweizerische Landeskunde. [Fascicel IV, 5.]

Classified, with full index. — Exact and thorough.

SWITZERLAND.

Bruhin, Thomas von Aquin.

Uebersicht der Geschichte und Litteratur der Schweizer Floren. Einsiedeln.
1863—1864.

2 parts.

30 and 38 p. 4to.

Published as Programm-Beilage der Stiftsschule, Einsiedeln.

Haller, Albrecht von.

Nomina scriptorum et editionum, quibus in hoc opere usus sum.

(In his Enumeratio methodica stirpium Helvet. indig., Goett., 1742,
p. 15—31.)

Haller, G. E. von.

Catalogue raisonné des auteurs qui ont écrit sur l'histoire naturelle de la Suisse.

(In Acta helvetica VII (1772) p. 181—330.) — Sep., Basel 1773.
166 p. 4to.

Histoire naturelle des végétaux de la Suisse: p. 301—313.

Bibliothek der Schweitzer-Geschichte und aller Theile, so dahin Bezug haben, systematisch-chronologisch geordnet. Bern, 1785—1787. Theil I—VI. 8°.

Th. I (1785).

Kräuterwissenschaft: p. 503—522.

An elaboration, with emendations, of the preceding.

Scheuchzer, J. J.

Historiae helveticae naturalis prolegomena. Tiguri, 1700.

30 p. 4to.

"Scriptores historiae naturalis topographicos recenset p. 3—19."
Dryander.

Historia naturalis Helvetiae prodromus.

(With his Bibliotheca scriptorum historiae naturali omnium terræ regionum inservientium. Tiguri 1716, and 2. ed., 1751.)

Schweizerische botanische Gesellschaft.

Referate über die im Jahre 1890 erschienenen Veröffentlichungen, welche auf die schweizerische Flora Bezug haben.

Berichte d. schw. bot. Gesellschaft, Heft 1 (1891), p. 124—163.

Referate . . . 1891 . . .

Ber. Heft 2 (1892), p. 127—152.

Referate . . . 1892 . . .

Ber. Heft 3 (1893), p. 108—120.

Referate . . . 1893 . . .

Ber. Heft 4 (1894) p. 81—114.

Referate . . . 1894 . . .

Ber. Heft 5 (1895), p. 94—125.

Referate . . . 1895 . . .

Ber. Heft 6 (1896), p. 55—87.

Referate . . . 1896 . . .

Ber. Heft 7 (1897), p. 96—131.

Referate . . . 1897 . . .

Ber. Heft 8 (1898), p. 39—82.

Fortschritte der schweizerischen Floristik: p. 83—125.

Referate . . . 1898 . . .

Ber. Heft 9 (1899), p. 79—98.

SWITZERLAND.

Schweizerische botanische Gesellschaft.

Referate über die im Jahre 1899 erschienenen Veröffentlichungen, welche auf die schweizerische Flora Bezug haben.

Ber. Heft 10 (1900), p. 72—108.

Fortschritte der schweizerischen Botanik 1898 u. 1899: p. 109—134.

Referate über die im Jahre 1900 erschienenen Publicationen, welche auf die schweizerische Flora Bezug haben. — Fortschritte der schweizerischen Botanik.

Ber. Heft 11 (1901), p. 90—204.

Referate . . . 1901 . . .

Ber. Heft 12 (1902), p. 59—75.

Referate . . . 1902 . . .

Ber. Heft 13 (1903), p. 1—102.

“Die Abschnitte I, II und III beziehen sich auf das Jahr 1902, der Abschnitt “Gefäßpflanzen” umfaßt die Jahre 1901 und 1902.”

Referate . . . 1903 . . .

Ber. Heft 14 (1904), p. 34—113.

Referate . . . 1904 . . .

Ber. Heft 15 (1905), p. 26—43.

See also Rikli, M.

Referate . . . [1905—1907] . . .

Ber. Heft 17 (1908), p. 84—255.

Rikli, M.

Bibliographie der im Jahre 1904 erschienenen Publicationen zur Flora der Schweiz (nebst Nachträgen aus früheren Jahren).

(In Ber. schweiz. bot. Ges., Heft XV (1905), p. 44—53.)

Brandstetter, J. L.

Naturhistorische Litteratur und Naturchronik der fünf Orte.

(In Mitth. Naturf. Ges. in Luzern I: 1895—96 (1897), p. 195—207.)

Covers period 1895—96.

— — für das Jahr 1897.

(Ibid. II: 1896—97 (1898), p. 217—236.)

— — für das Jahr 1898 und 1899.

(Ibid. III: 1898—1900 (1900), p. 443—486.)

— — für das Jahr 1900 und 1901.

(Ibid. IV (1904), p. 211—280.)

— — für das Jahr 1902 bis 1905.

(Ibid. V (1907), p. 1*—104*.)

SWITZERLAND — ALPS.

Jerosch, Marie Ch.

Literaturverzeichniss [über Alpenflora].

(In her Geschichte und Herkunft der schweizerischen Alpenflora. Leipzig, 1903, p. [202]—212.)

[Anon.]

Notice bibliographiques concernant les botanistes dont les voyages ou les ouvrages se rapportent plus ou moins directement aux Alpes savoyardes.

(In Bull. Soc. bot. de France X (1864), p. 667—673.)

UNITED STATES OF AMERICA.

Watson, Sereno.

Bibliographical index to North American botany; or citations of authorities for all the recorded indigenous and naturalized species of the flora of North America, with a chronological arrangement of the synonymy. Washington, Published by the Smithsonian Institution, March, 1878.

VI, 1., 476 p. 8°.

(Smithsonian Miscellaneous Collections. No. 258.)

Contents: Part I: Polypetalae. — No more published.

Bibliography of American Botany. 1894—1899.

A card catalogue of American botanical literature, arranged by authors. Published by the Cambridge Botanical Supply Company, Cambridge, Mass. Each title on separate card. "Prepared by a board of editors which includes . . . botanists of Columbia University, the National Herbarium and other institutions, and published . . . under the direction of a committee of the American Association for the Advancement of Science . . ."

The issue began in 1894, and the publication from this source covers 1894—1899 with 4357 cards.

The entries were originally printed in the Bulletin of the Torrey Botanical Club, beginning with the issue for January, 1894. Each entry was separately electrotyped, and the electrotypes became the property of the Cambridge Botanical Supply Co., as the publisher of the cards.

Bibliography of American Botany. 1900 —

A card catalogue of American botanical literature, arranged by authors. Published by the Torrey Botanical Club, New York City. Each title on separate card. Prepared by the board of editors mentioned above (for the years 1894—1899) until the end of 1902; since Jan., 1903, by John Hendley Barnhart, Editor of the Torrey Botanical Club.

The issue continues that above mentioned. Entries are printed in the Bulletin of the Torrey Botanical Club. With January, 1900, the electrotyping of the entries was abandoned, and few cards were printed except those needed to supply entries in this form to subscribers. — Since January, 1903, the entries have been reprinted monthly on thin paper, one side only, each form, or sheet, corresponding to a page in the Bulletin of the Torr. Bot. Club, and offered to subscribers.

Card index of American plants.

Card index of genera, species and varieties of [American] plants, [since 1885]. — Edited and published by Josephine A. Clark, Washington, D. C., 1894—1903.

The first issue, or installment, of cards, was published in Jan., or Feb., 1894. Twenty issues appeared in all, the last in Nov., 1903, when the editor transferred the work to the Gray Herbarium. The twenty issues contained 27,998 cards.

Card index of genera, species and varieties of American plants. — Edited by Mary A. Day. Published by the Gray Herbarium, Harvard University, Cambridge, Mass., 1904 —

Continues the above. Published in quarterly issues, or installments (Jan., April, July, Oct.). Issues 21—30 (1—21, see above) contain 20,660 cards. — Continued.

UNITED STATES OF AMERICA.

Britton, N. L.

A list of state and local floras of the United States and British America. (In *Annals, New York Acad. Sci.* V (1890), p. 237—300.) Elaborated from the lists of local floras by W. L. Gerard and N. L. Britton communicated in *Bull. Torrey Bot. Club*, VII (1880), p. 108—111; VIII, p. 7—8, 16—19, 81—83, and in a number of the subsequent volumes of the same periodical; cf. tables of contents to these.

Rydberg, Per Axel.

Scandinavians who have contributed to the knowledge of the flora of North America. A memoir prepared at the celebration, at the Augustana College and Theological Seminary, of the 200th. anniversary of the birth of Linné.

(In *Augustana Library Contrib.* (Augustana College, Rock Island, Ill.) Nr. 6, 1907, p. 1—49.)

Clark, Josephine Adelaide.

Bibliography [of the botanical report on the Death Valley Expedition, 1891].

(In Coville, F. V., *Botany of the Death Valley Expedition* (U. S. — Department of Agriculture. Division of Botany. Contributions from the U. S. National Herbarium, vol. 4, p. 284—300.)

U. S. A. — MONTANA.

Blankinship, J. W.

A century of botanical exploration in Montana. Collectors, herbaria and bibliography.

(In *Montana Agricultural College Science Studies* vol. I (Nr. 1), p. 3—31.)

U. S. A. — NEBRASKA.

Clements, F. E.

A preliminary list of the botanical expeditions in Nebraska, 1803—1893.

(In: Nebraska. University. — *Botanical Survey of Nebraska*. Conducted by the Botanical Seminar. III: Report for 1893. — Lincoln, Neb., Publ. by the Seminar, 1894, p. 39—42.)

Pound, Roscoe.

Bibliography of the flora of Nebraska.

(In: Nebraska. University. — *Botanical Survey of Nebraska*. Conducted by the Botanical Seminar. III. Report for 1893. — Lincoln, Neb. Publ. by the Seminar, 1894, p. 43—48.)

U. S. A. — NEW ENGLAND STATES.

Day, Mary A.

The local floras of New England.

(In Rhodora, *Journal of the New England Botanical Club*, I (1899), p. 111—120, 138—142, 158, 174—178, 194—196, 208—211.)

Separately, with title-page and pagination 1—28. Cambridge, Mass., Librarian of Gray Herbarium, 1899.

The herbaria of New England.

(In Rhodora, *Journal of the New England Botanical Club*, III (1901), p. 206—208, 219—222, 240—244, 255—262, 281—283, 285—288.)

U. S. A. — OHIO.

Kellerman, W. A.

Bibliography of Ohio botany.

(In Ohio Agricultural Experiment Station. *Bulletin. Technical series*, vol. I (no. 2), p. 180—201. Published May, 1890.)

Annotated; valuable.

Additions to the bibliography of Ohio botany.

(In Ohio State Academy of Science. *Report IV: 1895* (1896), p. 5—18.)

WEST INDIES.

Urban, Ignatius, ed.

Symbolae antillanae, seu Fundamenta florae Indiae Occidentalis. Berolini, [etc.], Fratres Borntraeger [etc.], 1898 — In progress.

Vol. I, 1898—1900; vol. II, 1900—1901; vol. III, 1902—1903; vol. IV (1903 —); vol. V (1904 —).

Contains the following bibliographical papers by the editor:

Bibliographia Indiae Occidentalis botanica.

(In vol. I, p. 3—195; 1898.)

Idem. Continuatio I.

(In vol. II, p. 1—7.) Publ. 1900.

Idem. Continuatio II.

(In vol. III, p. 1—13.) Publ. 1902.

Idem. Continuatio III.

(In vol. V, p. 1—16.) Publ. 1904.

Notae biographicae peregrinatorum Indiae occidentalis botanicorum.

(In vol. II, p. 14—158.) Publ. 1902.

4. Morphology and Anatomy. Micro-Technique. Teratology.

Botanische Litteratur der Zelle. 1886 —

Jahresbericht über die Fortschritte der Anatomie und Physiologie, hrsg. von Fr. Hoffmann und G. Schwalbe.

Vol. XV: 1886. I. Abt. (1887).

Zelle und Gewebe im Allgemeinen: p. 30—72.

Contains reviews of botanical contributions, signed by J. Wortmann.

Vol. XVI: 1887. I. Abt. (1888).

Zelle und Gewebe . . . : p. 31—103.

Contains reviews of botanical contributions, signed by E. Zacharias.

Vol. XVII: 1888. I. Abt. (1889).

Zelle und Gewebe . . . : p. 36—78.

Botanische Nachträge. Referent: E. Zacharias. — Separate list of botanical contributions, with reviews scattered among those of zoological.

Vol. XVIII: 1889. I. Abt. (1890).

Zelle und Gewebe . . .

Nachträge aus der botanischen Literatur. Ref.: E. Zacharias: p. 52—59.

List of papers, with reviews, separate.

Vol. XIX: 1900. I. Abt. (1901).

Zelle und Gewebe . . .

Nachträge . . . Ref.: E. Zacharias: p. 65—75.

List of papers, with reviews, separate.

Vol. XX: 1891. I. Abt. (1892).

Zelle und Gewebe . . .

Anhang: Botanische Literatur über die Zelle, zusammengestellt von E. Zacharias: p. 27—29.

List of papers only.

Botanische Litteratur der Zelle. 1886 —

Jahresbericht über die Fortschritte der Anatomie und Entwicklungsgeschichte, hrsg. von G. Schwalbe. Neue Folge. (Continuation of the foregoing, I. Abteilung.)

Vol. I: Litteratur-Verzeichniss für die Jahre 1892, 1893, 1894, 1895.

Botanische Literatur der Zelle. Ref. E. Zacharias.

für 1892: p. 23—25.

„ 1893: p. 207.

„ 1894: p. 357.

„ 1895: p. 534—535.

Lists of papers, without reviews.

Vol. II: 1896 (1898).

Zelle und Zellteilung. Ref.: Dr. H. Rabl: p. 48.

Includes some botanical references.

Vol. III: 1897 (1898).

Botanische Literatur der Zelle. Ref.: E. Zacharias: p. 80—102.

Vol. IV: 1898 (1899).

Bot. Lit. d. Z. Ref. L. Jost: p. 76—89.

Vol. V: 1899 (1900).

Bot. Lit. d. Z. Ref.: L. Jost: p. 78—95.

Vol. VI: 1900 (1901).

Bot. Lit. d. Z. Ref.: M. Körnicke: p. 80—107.

Vol. VII: 1901 (1902).

Bot. Lit. d. Z. Ref.: M. Körnicke: p. 65—100.

Vol. VIII: 1902 (1903).

Bot. Lit. d. Z. Ref.: M. Körnicke: p. 65—109.

Vol. IX: 1903 (1904—05).

Bot. Lit. d. Z. Ref. M. Körnicke: p. 68—99.

Vol. X: 1904 (1905).

Bot. Lit. d. Z. Ref. M. Körnicke: p. 67—107.

Vol. XI: 1905 (1907). I. Abt.

Bot. Lit. d. Z. Ref.: G. Tischler: p. 57—123.

Vol. XII: 1906 (1907). I. Theil.

Bot. Lit. d. Z. Ref.: G. Tischler: p. 70—150.

Vol. XIII: 1907 (1908). I. Theil.

Bot. Lit. d. Z. Ref.: P. Arens: p. 80—166.

Leclerc du Sablon.

Revue des travaux d'anatomie publiés en 1888.

(In Revue gén. de bot. I, 47—52, 88—94; 1889.)

Revue . . . publiés en 1889 et au commencement de 1890.

(Ibid. II, 412—416, 456—464, 491—496; 1890.)

Prunet, A.

Revue des travaux d'anatomie végétale parus de juillet 1890 à décembre 1891.

(In Rev. gén. de bot. IV (1892), p. 41—48, 79—96, 135—144, 186—192, 231—240, 283—288, 332—335, 354—368.)

Revue . . . parus en 1892, 1893 et 1894.

(Ibid. IX (1897), p. 27—32, 58—72, 119—128, 150—152, 181—192, 226—232, 355—359, 435—448.)

Molliard, Marin.

Revue des travaux d'anatomie végétale parus en 1895 et 1896.

(In Rev. gén. de bot. X (1898), p. 423—432, 491—496, 546—557; XI (1899), p. 29—32, 72—80, 120—128, 152—160, 205—208, 238—240, 281—288, 330—336, 436—447, 485—494.)

Ricôme, H.

Revue des travaux d'anatomie parus de 1897 à 1902.

(In Rev. gén. de bot. XVI (1904), p. 167—176, 203—208, 249—256, 294—304, 369—372, 402—404, 477—490; XVII (1905), p. 283—288, 332—336, 377—380, 441—448, 536—543; XVIII (1906), p. 44—47, 141—144, 191—192, 472—480, 509—518; XIX (1907), p. 42—48, 91—96, 125—128, 230—240, 300—301.)

Chimani, Otto.

Untersuchungen über Bau und Anordnung der Milchröhren mit besonderer Berücksichtigung der Guttapercha und Kautschuk liefernden Pflanzen.

(In Botan. Centralbl. LXI (1895), p. 305—313, 353—360, 385—395, 417—426, 449—461; pl. I—II.)

Contains a very extensive historical introduction with exact references to literature.

Hansen, Adolf.

Zur Geschichte und Kritik des Zellenbegriffes in der Botanik. Bonn, Gera: F. v. Zezschwitz, 1897.

58 p., 1 pl. 8°.

Goethes Methamorphose der Pflanzen. Geschichte einer botanischen Hypothese. Giessen, A. Töpelmann, 1907.

Theil I. Text: XI, 380 p. 4to.

— II. Tafeln: 28 plates. fol.

Theil I, p. IX—X: Literatur über Goethes Metamorphose.

Herbst, Adolf.

Beiträge zur Kenntniss der Markstrahlen dicotyler Kräuter und Stauden.

(In Botan. Centralbl. LVII (1894), p. 257—266, 289—298, 321—330, 353—361, 401—415; pl. III.)

“Einleitung” (p. 257—265) and “Literatur” (p. 413—415) contain valuable literary data covering the history of the subject.

Kayser, Georg.

Beiträge zur Kenntniss der Entwicklungsgeschichte der Samen mit besonderer Berücksichtigung des histogenetischen Aufbaues der Samenschalen.

(In Jahrb. wiss. Bot. XXV (1893), p. 79—148; pl. IV—VII.) Sep.: Inaug.-Diss. Rostock, 1893.

Einleitung: p. 79—85. Contains a partial bibliography of the subject.

Kienitz-Gerloff, F.

Verzeichniss der Litteratur über die Protoplasmaverbindungen.

(In Botan. Zeitung, Jahrg. 49 (1891), p. 68—72.)

Koernicke, M.

Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung.

(In Ber. d. Deutschen Bot. Gesellsch. XXI (1903), p. (66)—(134).

Die neueren Arbeiten über die Chromosomenreduction im Pflanzenreich und daran anschließende karyokinetische Probleme. 1. Bericht.

(In Bot. Zeit. LXII (1904), II. Abth., p. 305—314.)

— — Zweiter Bericht.

(Ibid., LXIII (1905), II. Abth., p. 289—307.)

Küster, Ernst.

Aufgaben und Ergebnisse der entwicklungsmechanischen Pflanzenanatomie.

(In Progressus rei botan. II (1908), p. 455—558.)

Lonay, Hyacinthe.

Analyse coordonnée des travaux relatifs à l'anatomie des téguments séminaux.

(In Mém. et publ. de la Soc. des arts et des lettres de Hainaut. Tome 56 (sér. 6, tome VI; 1904), p. 251—310; tome 57 (sér. 6, tome VII; 1905), p. 1—88. — Sep., with sep. t.-p. and pagin: Mons, 1905. 146 p. 8°.)

Bibliographie, p. 58—81 (in sep., p. 116—139). 277 entries.

Lubbock, John (First Baron Avebury), 1834 —

Bibliography [of seedlings].

(In his A contribution to our knowledge of seedlings. (London and) New York (D. Appleton), 1892, vol. II, p. 589—628.)

Arranged by subjects (families).

Oliver, D.

The structure of the stem in Dicotyledons; being references to the literature of the subject.

(In Natural History Review, London, 1862; p. 298—329; 1863, p. 251—258.)

Pammel, L. H.

Partial bibliography of mucilaginous seed-coats and pericarps.

(In his On the seed-coats of the genus Euphorbia (In Trans. Acad. Sci., St. Louis, V (1886—1891), p. 543—568; pl. 12—14), p. 559—566.)

Published in 1892. — Also issued as Contributions from the Shaw School of Botany, No. 8.

A partial bibliography of mustard seeds.

(In Amer. Mo. Microscop. Journ. XVIII (1897), p. 313—317.)

Rosenberg, Otto.

Physiologisch-cytologische Untersuchungen über *Drosera rotundifolia* L. Inaugural-Dissertation . . . Upsala, [1899].

2 l., 126 p., 1 l.; pl. 1—II. 4to.

“Am Schluss giebt Verf. eine Zusammenstellung der in der botanischen und zoologischen Litteratur vorhandenen Angaben über die Beziehungen der Zellkerne zu nahrungsphysiologischen Processen.” — Grevillius.

Strasburger, E.

Die Ontogenie der Zelle seit 1875.

(In *Progressus rei botan.*, I. Jahrg. (1907), p. 1—138.)

Tyler, A. A.

The nature and origin of stipules.

(In Ann. New York Acad. of Sciences, X (1897), p. 1—49; pl. I—III.)

A review of important literature pertaining to stipules, p. 3—22.

Wettstein, R. von.

Die Entwicklung der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Phanerogamen in Oesterreich von 1850 bis 1900.

(In Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900. hrsg. von der Zool.-Bot. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 195—218.)

Zimmermann, A.

Sammel-Referate aus dem Gesamtgebiete der Zellenlehre.

(In Beihefte zum Bot. Centralblatt, III (1893), p. 206—217, 321—354, 401—436. — IV (1894), p. 81—101, 161—171, 321—335.)

Covers mainly publications after 1886.

Zimmermann, A.

Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. Eine kritische Literaturstudie. M. 84 Textfig. Jena, G. Fischer, 1896.
VIII, 188 p. 8°.

MICRO-TECHNIQUE.

Zimmermann.

Die botanische Mikrotechnik. Tübingen, H. Laupp, 1892.

X, 278 p. 8°.

Litteraturverzeichniss: p. 253—265.

English translation: Botanical microtechnique, tr. by James Ellis Humphrey. New York, Holt, 1893. — XII, 296 p. 8°.

Literature: p. 265—283.

Richter, Oswald.

Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermann's Botanischer Mikrotechnik. Sammelreferat.

(In Zeitschr. für wissenschaftl. Mikroskopie XXII (1905): 194—261; 369—411.)

Moll, J. W.

Die Fortschritte der mikroskopischen Technik seit 1870.

(In Progressus rei botanicae II (1908), p. 227—291.)

Dufour, Léon.

Revue des travaux relatifs aux méthodes de technique, publiés en 1888 et jusqu'en avril 1889.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 280—292, 343—356.)

Revue . . . publiés en 1889, 1890 et jusqu'en avril 1891.

(Ibid. III (1891), p. 427—436, 488—496, 531—533.)

TERATOLOGY.

Penzig, O.

Verzeichniss der Arbeiten, welche über Bildungsabweichungen der Pflanzen handeln.

(In his Pflanzen-Teratologie. Genua, Druck von A. Ciminago, 1890—1894. Vol. I—II. 8°. — Vol. I, p. 1—166; vol. II, p. 1—26.)

Houard, G.

Revue des travaux de tératologie végétale parus de 1895 à 1899.

(In Revue gén. de bot. XVII (1905), p. 86—96, 137—144, 179—192, 277—282, 326—331, 434—440, 544—554; XVIII (1906), p. 130—140, 186—190.)

5. Plant Geography. Systematic Botany. Ecology.

Nomenclature.

SYSTEMATIC BOTANY.

Literatur der systematischen Botanik. 1834—1836.

Literatur der systematischen Botanik von 1834.

(In Archiv für Naturgeschichte (Wiegmann) 1835, I, p. 293—300.)

Literatur . . . von dem Jahre 1835.

(Ibid. 1836, II, p. 1—14.)

Literatur . . . 1836.

(Ibid. 1837, II, p. 1—15.)

SYSTEMATIC BOTANY.

Grisebach, H. R. A.

Bericht über die Leistungen in der Pflanzengeographie während des Jahres 1840.

(In Archiv für Naturgeschichte (Wiegmann) 1841, II, p. 433—474.)

The reports 1843—1853 also were published separately, with sep. title-page and pagin.

Bericht . . . 1841.

(Ibid. 1842, II, p. 406—462.)

Bericht . . . 1842.

(Ibid. 1844, II, p. 366—443.)

Bericht . . . 1844.

(Ibid. 1845, II, p. 329—416.)

Bericht . . . 1845.

(Ibid. 1846, II, p. 317—394.)

Bericht . . . 1846.

(Ibid. 1847, II, p. 409—472.)

Bericht . . . 1847.

(Ibid. 1848, II, p. 257—350.)

Bericht über die Leistungen in der geographischen und systematischen Botanik während des Jahres 1848.

(Ibid. 1849, II, p. 340—446.)

Bericht . . . 1849.

(Ibid. 1850, II, p. 251—350.)

Bericht . . . 1850.

(Ibid. 1851, II, p. 272—392.)

Bericht . . . 1851.

(Ibid. 1852, II, p. 308—429.)

Bericht . . . 1852.

(Ibid. 1853, II, p. 287—411.)

Bericht . . . 1853.

(Ibid. 1855, II, p. 313—410.)

Der gegenwärtige Standpunkt der Geographie der Pflanzen.

(In Geogr. Jahrb. (Behm) I: 1866 (1866), p. 373—402.

Bericht über die Fortschritte in der Geographie der Pflanzen.

(Ibid. II: 1868 (1868), p. 186—219.)

Bericht . . .

(Ibid. III: 1870 (1870), p. 172—210.)

Bericht . . .

(Ibid. IV: 1871 (1871), p. 21—58.)

Bericht . . .

(Ibid. V: 1872 (1872), p. 46—97.)

Bericht . . .

(Ibid. VI: 1873 (1873), p. 211—284.)

Berichte über die Fortschritte in der Geographie der Pflanzen. I—VI (1866—1876).

(In his Gesammelte Abhandlungen, Leipzig, 1880, p. 335—556.)

Includes the above named reports in Geogr. Jahrb.

SYSTEMATIC BOTANY.

Grisebach, H. R. A.

Translations:

Report on the contributions to botanical geography during the year 1842.
Transl. by W. B. Macdonald.(In Reports and papers on botany. London, Ray Society, 1846.
p. 55—212.)

Report . . . 1843. Transl. by George Busk.

(Ibid., p. 123—212.)

Reports on the progress of geographical botany during the year 1844.

(Reports and papers on botany, ed. by Arthur Henfrey. London,
Ray Society, 1849, p. 315—493.)*Bibliotheca geographica. 1891 —*Bibliotheca geographica. Hrsg. von der Gesellschaft für Erdkunde zu
Berlin. Bearbeitet von Otto Baschin. Berlin, W. H. Köhl.

Bd. I: 1891—92. 1895. — In progress.

Both the general subject and the special country divisions have a
subdivision: Biologische Geographie, under which heading are given
a selection of botanical titles.*Bayer, R.*Ergebnisse der bisherigen Arbeiten bezüglich der Ueberpflanzen ausserhalb
der Tropen.(In Verhandl. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. XXXVII (1895),
p. 105—129.)*Drake del Castillo, E.*Revue des travaux de botanique systematique publiés pendant les années
1894—1899.(In Rev. gén. de bot. XII (1900), p. 74—80, 121—128, 166—176,
206—208, 298—304, 328—336; XIII (1901), p. 44—48, 402—410,
434—436.)*Engler, A.*

Über die neueren Fortschritte der Pflanzengeographie (seit 1899).

(In Botan. Jahrbuch. XXX (1901), Litteraturbericht, p. 73—102.

*Flahault, Ch.*Les progrès de la géographie botanique depuis 1884, son actuel état, ses
problèmes.

(In Progressus rei botan., I. Jahrg. (1907), p. 243—317.)

Gordale, George Lincoln.

The floras of different countries. Cambridge, Mass., 1879.

12 p. 8°.

(Library of Harvard University. Bibliographical Contributions, ed. by
Justin Winsor. No. 9.)"Republished from the Bull. of the Libr. of Harv. Univ. Nos. 10,
11, and 12."

ECOLOGY.

Buchenau, F.

Der Wind und die Flora der ostfriesischen Inseln.

(Ibid., XVII (1903), p. 552—577.)

"Übersicht der für die Windfrage . . . in Betracht kommenden
Schriften", p. 575—577.

ECOLOGY.

Cannon, William Austin.

Bibliography [of desert vegetation].

(In Coville, F. V. and Mac Dougal, D. T., Desert Botanical Laboratory of the Carnegie Institution, Washington, D. C., 1903, p. 46—58.)

Clements, F. E.

Research methods in ecology. Lincoln, Nebraska, University Publishing Co., 1905.

XVII, 334 p. 8°.

Bibliography: p. 324—334.

The development and structure of vegetation.

(In: Nebraska. University. Botanical Survey of Nebraska, conducted by the Botanical Seminar. VII: Studies in the vegetation of the State, III. Lincoln, Neb. Published by the Seminar, 1904. — 1 l., p. 5—175.)

Contains a number of valuable lists of publications on plant ecology.

Ganong, F. W.

Bibliography [of the vegetation of marshes].

(In Bot. Gaz. XXXVI (1903), p. 453—455.)

Raunkjær, C.

De danske Blomsterplanter Naturhistorie. Første Bind: Enkimbladede. Kjöbenhavn, Gyldendal (Comm.), 1895—1899.

LXIX, 724 p. 8°.

Literaturfortegnelse [særligt vedrørende plantebiologiske Forhold]: p. 682—720. — 960 entries.

Warming, J. E. B.

Auswahl der Litteratur [über Pflanzengeographie].

(In his Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. 2. Aufl., übers. von Dr. E. Knoblauch, bearb. . . . von Paul Graebner. Berlin, Gebr. Borntraeger, 1902, p. 400—419.)

This ed. was not sanctioned by the author. The book list, however, contains the original list of the Danish original and of the first German (authorized) ed., with expansions by P. Graebner.

NOMENCLATURE.

Universal botanical index.

Universal botanical index of new genera, species, varieties and names of phanerogams and superior cryptogams published since January 1st., 1901. Edited and published by the Herbar Boissier (Conservateur, Gustave Beauverie). Chambézy, Switzerland, 1901 —

A card index of names, with references to place of description, family and locality (range). Comprises hitherto only phanerogamic plants of both hemispheres except North and South America. Issued in continuation of the Index Kewensis, Supplementum secundum, which covers period ending December 31st., 1900. The cards published until August 31., 1906, number 16293.

Didrichsen, Didrich Ferdinand.

Nogle sammensatte Plantenavne, især imperative Former.

(Blandinger . . . udg. af Universitets-Jubilæets danske Samfund. 2. Hefte (1882), p. 103—119.)

Compound plant-names, especially imperative forms.

NOMENCLATURE.

Jackson, B. Daydon.

A review of the Latin terms used in botany to denote colour.

(In Journ. of Bot. XXXVII (1899), p. 97—106.)

Bibliography: p. 104—106.

Kuntze, Otto.

Die Bewegung in der botanischen Nomenclatur von Ende 1891 bis Mai 1893.

(In Botan. Centralbl. LIV (1893), p. 353—361, 385—408. — Sep., with sep. pagin.)

Saccardo, Pier'Andrea.

Progetto di un lessico dell'antica nomenclature botanica comparata alla linneana ed elenco bibliografico delle fonti relative.

(In Malpighia, XVII (1903), p. 241—279.)

5 a. Phanerogamae.

Ananas.

Hume, H. Harold.

Pineapple culture. V. History and bibliography.

(In Florida Agricult. Experiment Station. Report for the year ending June 30, 1906.)

Aster.

Burgess, Edward Sandford.

History of pre-Clusian botany in its relation to Aster. New York, 1902. XII, 447 p. 8°.

(Mem. Torrey Botan. Club, vol. X.)

Castanea.

Piccioli, Lodovico.

Bibliografia [del castagno].

(In his Monografia del castagno. Firenze, 1902, p. 1—11.)

Coniferae.

Pilger, R. K. F.

Neuere Litteratur über Coniferen (1897—1901).

(In Botan. Jahrb. XXXI, Litteraturbericht, p. 1—16.)

Coffea.

Weitenweber, Wilhelm Rudolph.

Der arabische Kaffee in naturhistorischer . . . Hinsicht geschildert. Prag, Thabor, 1835.

130 p. 8°.

Bibliographie: p. 9—14.

Crocus.

Römer, Heinrich.

[Bibliographie der Gattung Crocus.]

(In Botan. Zeitung 1851, col. 805—808.)

Published by Henckel von Donnersmarck. Covers period until 1834.

Galeopsis.**Briquet, John.**Bibliographie systématique du genre *Galeopsis*.(In his *Monographie du genre Galeopsis* (1892), p. 199—219. (Mém. couronn. et mém. des savants étrang. publ. de l'Acad. roy. de Belgique, tom LII (1893) No. 9.)) — Presented Jan. 9., 1892.

From Linné to 1890. The historical introduction (p. 1—14) gives literature other than systematic.

Gramineae.**Trinius, C. B.**

Clavis agrostographiae antiquioris. Uebersicht des Zustandes der Agrostographie bis auf Linné; und Versuch einer Reduction der alten Synonyme der Gräser auf die heutigen Trivialnamen. Coburg, Biedermann, 1822.

XXIV, 412 p., 1 pl. 8°.

See p. 21—44.

Leguminosae.**Pammel, L. H.**

Bibliography pertaining to Leguminosae.

(In his *Anatomical characters of the seeds of Leguminosae* . . .(In *Trans. Acad. Sci., St. Louis, IX* (1899), p. 91—[274], p. 224—257.)

Published June 29., 1899.

475 entries.

Myristica.**Warburg, Otto.**

Die Muskatnuss . . . Leipzig, Engelmann, 1897.

XII, 628 p., front., illus., 6 pl. 8°.

Litteratur-Verzeichniss: p. [594]—611.

Nicotiana.**Comes, O.**

Histoire, géographie, statistique du Tabac . . . Naples, Typographie coopérative, 1900.

2 p., 1 l., 332 p., 5 pl. 4to.

Contains a very complete literary apparatus.

Nymphaeaceae.**Conard, Henry S.**Bibliography [of *Nymphaeaceae*].(In his *The waterlilies: a monograph of the genus Nymphaea*.

Washington, Carnegie Institution, 1905, p. 243—263.)

Oxalidaceae.**Chauvel, Fr.**

Recherches sur la famille des Oxalidacées. Paris, A. Joanin & Cie., 1903.

205, [2] p., illus., pl. 8°.

Thèse. Université de Paris.

Index bibliographique, p. 201—205.

Phyteuma.**Schulz, Richard.**Monographie der Gattung *Phyteuma*. Geisenheim a. Rh., Druck und Kommissionsverlag von J. Schneck, 1904.

1 l., 204 p., 3 maps.

"Historische Uebersicht": p. 1—16.

Rosa.**Thory, Claude Antoine.**

Bibliographia botanica rosarum, ou Bibliographie spéciale des écrits publiés sur la rose et le rosier.

(In Redouté, P. J., Les roses peintes par P. J. Redouté, décrites par Claude Antoine Thory. Paris, Imp. Didot (1817—1824), vol. I (1817), p. 139—156.)

Vergara, Mariano.

Bibliografía de la rosa. Madrid, M. Tello, 1892.

318 p., 1 l. 8°.

Printed on versos only.

Zea.**Harshberger, John W.**

Maize: a botanical and economic study.

(In Contrib. Bot. Lab. Univ. of Pennsylvania. Philadelphia. Vol. I (1893), p. 75—202; pl. XIV—XVII.)

Contains very full lists of references, at the end of each chapter and in text proper. — The best general monograph on the subject of Zea Mays.

5 b. Cryptogamae.

Centralblatt für Bakteriologie . . . 1887 —

Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.

I—XVIII: 1887—1894.

In 1895, this periodical was divided into two sections, the first continuing the original volume numbering, the second with new volume numbering.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Erste Abteilung.

XIX —: 1895 — In progress.

Vol. XXXI and following published in two parts: 1. Originale; 2. Referate.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Zweite Abteilung. Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie and Pflanzenpathologie.

I —: 1895 — In progress.

Each number contains a list of current literature.

Indexes:

Centralblatt . . . Erste Abteilung. Generalregister für die Bände I—XXV, bearb. von G. Lindau. Jena, G. Fischer, 1899.

IV, 1 l., 520 p. 8°.

Centralblatt . . . Zweite Abteilung. Generalregister für die Bände I—X, bearb. von G. Lindau. Jena, G. Fischer, 1903.

2 l., 184 p. 8°.

— — Generalregister für die Bände XI—XX, bearb. von K. Tautz. Jena, G. Fischer, 1908.

3 l., 246 p. 8°.

Hedwigia, 1861 —

Hedwigia. Organ für Kryptogamenkunde nebst Repertorium für kryptogamische Litteratur.

Jahrg. 1 (1861) — In progress.

From the beginning until 1893 incl. lists of current literature were given from time to time; in 1894 the following was created:

Repertorium für kryptogamische Literatur. Beiblatt zur Hedwigia.

1894 — In progress.

Paged separately, but without separate title-page. Contains annotated lists of current mycological literature, accompanied by reviews and annotations.

Jahresberichte über die Fortschritte der Lehre von den Gährungsorganismen, von Dr. Alfred Koch, 1891 —

Erster Jahrg.: 1890. Braunschweig, 1891.

Imprint varies: Jahrg. I—VIII: Braunschweig, H. Bruhn; IX —: Leipzig, S. Hirzel.

Lindau, G., and Sydow, P.

Thesaurus litteraturae mycologicae et lichenologicae ratione habita praecipue omnium quae adhuc scripta sunt de mycologia applicata quem congresserunt . . . Lipsiis, Borntraeger, 1902 —

Vol. I. Pars I. 1902.

In progress.

Campbell, Douglas Houghton.

Bibliography [of Archegoniatae].

(In his The structure and development of mosses and ferns (Archegoniatae). New York, Macmillan, 1905, p. 607—630.)

Also in first ed. (1895).

Zahlbruckner, Alexander.

Die Entwicklung der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Kryptogamen in Oesterreich von 1850 bis 1900. Unter Mitwirkung von Dr. K. von Keissler und Dr. F. Krasser.

(In Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900, hrsg. von der K. K. Zool.-Botan. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 155—194.)

Filices.**Christensen, Carl.**

Catalogus literaturae. Enumeratio alphabetica et systematica omnium operum in quibus nova genera et species filicum et hydropteridum descripta sunt . . .

(In his Index filicum, Hafniae 1906, p. 671—738.)

Hamilton, A.

On abnormal developments in New Zealand ferns; with a list of papers by various authors on the ferns of New Zealand.

(In Transact. New Zealand Institute XXXVI (1904), p. 334—372.)

A very comprehensive bibliography: p. 340—372.

Underwood, L. M.

The early writers on ferns and their collections. I—IV.

(In Torreya, III (1903), p. 145—150; IV (1904), p. 49—52, 145—150; V (1905), p. 37—41. — Reprinted in Contrib. Departm. of Botany, Columbia University, No. 214; cover-title (Impr. New York, 1903—1905), orig. pagin.)

Useful critical estimate.

Equisetaceae.**Milde, J.**

Monografia Equisetorum.

(In Nova Acta Acad. Caes. Leop.-Carol. XXXII, Pars II (1867).)
Geschichtlicher Theil: p. 29—123. — Contains full bibliographical data.**Musci.****Bottini, A.**

Bibliografia briologica italiana.

(In Atti della Soc. tosc. di scienze natur. XII (1892), p. 256—292.)

Delogne, C. H.

Bibliographie générale des mousses.

(In his Flore cryptogamique de la Belgique. Bruxelles, 1884,
p. 295—310.)**Géneau de Lamarlière, L.**Revue des travaux publiés sur les muscinées depuis le 1^{er} janvier 1889
jusqu'au 1^{er} janvier 1895.(In Rev. gén. de bot. VIII (1896), p. 40—48, 74—80, 111—128,
168—176, 217—224, 313—320, 368—384, 426—432, 469—480,
514—516; IX (1897), p. 73—80, 153—160, 233—240, 260—272,
318—323.)Revue des travaux sur les muscinées depuis le 1^{er} janvier 1896 jusqu'au
1^{er} janvier 1900.(In Rev. gén. de bot. XIII (1901), p. 235—240, 285—288, 331—336,
437—441; XIV (1902), p. 41—44, 89—91, 184—188, 356—363,
436—439.)**Boulay, A.**

Muscinées de la France. Première partie: Mousses. Paris, Savy, 1884.

Documents bibliographiques: p. VI—XIV.

Hagen, I. S.Norges bryologi i det 18^{de} århundrede.(Det Kgl. Norske Videnskabernes Selskabs Skrifter. 1897. No. 3. —
Trondhjem 1897.)

195 p., illus. (ports.). 8°.

Indledning: p. 1—53. — Contains a very full bio-bibliography
of Dano-Norwegian bryologists.**Limpricht, K. G.**Die Laubmoose Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. I—III. Abth.
Leipzig, E. Kummer, 1890—1894.(Dr. L. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oester-
reich und der Schweiz. IV. Bd.)Verzeichniss der bryologischen Litteratur und Sammlungen: III. Abth.,
pagg. litt. ital. 55—79. — With special reference to recent literature.**Hepaticae.****Barsali, E.**

. . . Bibliografia epatologica italiana. Pisa, tip. F. Simoncini, 1902.

36, [2] p. 8°.

Breidler, Joh.

Die Lebermoose Steiermarks.

(In Mitth. d. naturwiss. Vereins für Steiermark. Jahrg. 1893, p. 254—357.)

"Vor der Aufzählung . . . giebt Verf. in historischer Folge einen ausführlichen Litteraturnachweis (31 Nummern) über steiermärkische Lebermoose." — Warnstorf.

Fiori, A.

Revista statistica dell'epaticologia italiana.

(In Malpighia VI (1892), p. 41—49.)

Bibliografia dal 1885 in poi: p. 48—49.

Supplement to Massalongo, q. v.

Gottsche, C. M.

Übersicht und kritische Würdigung der seit dem Erscheinen der Synopsis Hepaticarum bekannt gewordenen Leistungen in der Hepaticologie.

(In Botan. Zeitung 1858, Beilage, p. 1—54.)

Covers period 1844(—1847) to 1857.

Lindberg, Sextus Otto.

Hepaticologins utveckling från äldsta tider till och med Linné. Dekanus-program. Helsingfors, 1877.

51 p. 8°.

Cf. Marshall A. Howe, in Erythea II (1894), p. 130—135, 143—147.

Massalongo, C.

Epatiche raccolte alla Terra del Fuoco . . .

(In Nuovo giorn. bot. ital. XVII (1885), p. 201—277.)

Contains a useful bibliography of the hepaticology of Terra del Fuoco and of the Southern hemisphere generally (Penzig).

Repertorio dell'epaticologia italiana.

(In Annuario del R. Istituto botanico di Roma Anno II, fasc. 2, (1886).)

Has introduction: Bibliografia dell'epaticologia italiana. — Supplement, see Fiori.

Migliorato, E.

Elenco bibliografico della flora epaticologica degli Abruzzi e dal Napoletano.

(In Annali di Botanica IV (Roma, 1906), p. 295—300.)

Underwood, L. M.

Index Hepaticarum. Part I — Bibliography.

(Memoirs Torrey Bot. Club IV, N. 1.)

91 p. 8°.

"Issued June 10., 1893."

Lichenes.

Krempelhuber, August von.

Geschichte und Litteratur der Lichenologie von den ältesten Zeiten bis zum Schlusse des Jahres 1865. Zum erstenmale bearbeitet. München, Kaiser, 1867—1872.

3 v. 8°.

Coll. Bd. I: XV, 616 p.; Bd. II: VIII, 776 p.; Bd. III: XVI, 261 p.

Contents: Bd. I: Geschichte und Litteratur. Bd. II: Die Flechten-Systeme und Flechten-Species. Bd. III: Die Fortschritte und die Litteratur der Lichenologie in dem Zeitraume von 1866—1870 incl. nebst Nachträgen zu den früheren Perioden.

Hue, A. M.

Revue des travaux sur la description et la géographie botanique des lichens publiés en 1888.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 397—403.)

Revue . . . publiés en 1889.

(Ibid. II (1890), p. 404—411.)

Revue . . . publiés en 1890.

(Ibid. IV (1892), p. 31—39.)

Revue . . . publiés en 1891.

(Ibid. V (1893), p. 36—48.)

Revue . . . publiés en 1892 et 1893.

(Ibid. VI (1894), p. 174—185, 222—240, 270—272.)

Revue . . . publiés en 1894—1897.

(Ibid. X (1898), p. 125—128, 171—176, 215—224, 267—272, 312—320, 345—352, 381—384.)

Jatta, Antonio.

Bibliographia scriptorum omnium que de lichenibus italicis ab anno 1546 huc usque scripserunt.

(In his Sylloge lichenum italicorum. Trano, V. Vecchi, 1900, p. XIX—XXXII.)

Materiali per un censimento generale dei Licheni italiani.

(In Nuovo giorn. bot. ital. XXIV (1892), p. 5—57.)

The second part of this paper is a bibliography of the subject, inclusive of exsiccata.

Martius, C. F. Ph. von.

Auszug aus einem Berichte über den damaligen Stand unserer Kenntnisse der Flechten . . .

(In Flora, 1826, I, p. 193—204, 209—217.)

Willey, H.

American lichenography.

(In Proceed. Essex Institute (Salem, Mass.) vol. V: 1865—67 (1866—68), p. 191—196.)

Annotated list of publications to that date.

Appendix in Bull. Torrey Bot. Club VI (1878), p. 244—245.

Algae. Characeae. Desmidiaceae. Diatomaceae.**La Nuova Notarisia. 1889 —**

La Nuova Notarisia; rassegna consecrata allo studio delle alghe. Modena, 1889 —

Serie I (1889) — In progress. Issued monthly.

Contains as a standard feature of each issue: "Litteratura phycologica; florae et miscellanea phycologica."

De Toni, G. B.

Bibliotheca phycologica seu catalogus librorum et collectionum exsiccatarum algas quascumque sistantium.

(In his Sylloge algarum vol. I (1887), p. I—CXXXIX.)

—. Addenda.

(Ibid., vol. IV (1897), p. I—LXI.)

Flahault, Ch.

Revue des travaux sur les algues publiées en 1888, et pour une partie de 1889.

(In Rev. gén. de bot. II (1890), p. 33—48, 78—96.)

Revue . . . publiés de 1889 au commencement de 1892.

(Ibid. V (1893), p. 87—96, 136—144, 181—192, 235—240, 276—288, 328—336, 389—400, 435—448, 493—496, 529—532; VI (1894), p. 41—48, 83—96, 136—144.)

Bary, A. de.

Bericht über die Fortschritte der Algenkunde in den Jahren 1855, 1856 und 1857.

(In Botan. Zeitung 1858, Beilage, p. 55—99.)

Cesati, V.

Saggio d'una bibliografia algologica italiana.

(In Mem. della Soc. ital. delle Sci. a Napoli IV (1882) — Sep., Napoli, 1882. 77 p. 4to.)

Deby, J.

Bibliotheca diatomologica seu catalogus librorum et collectionum exsiccatarum bacillarias quascunque sistentium.

(In De Toni, G. B. Sylloge algarum vol. II (1901), p. V—CXXXII.)

Supplementary titles are contained in the Addenda to De Toni, Bibliotheca phycologica (Syll. alg. vol. IV (1897), p. I—LXI).

Bibliography of Diatomaceae.

(In Mills, F. W. An introduction to the study of the Diatomaceae. London and Washington, 1893, p. 78—240.)

De Toni, G. B.

Phyceae japonicae novae, addita enumeratione algarum in ditone maritima Japoniae hucusque collectarum. Alghe marine del Giappone ed isole adesso appartenenti, con illustrazione di alcune spezie nuove. Con 2 tav.

(In Mem. d. R. Istituto Veneto. XXV. No. 5. 1895. — Venezia, 1895. — 78 p., 2 pl., 4to.)

“Das zweite Kapitel behandelt ziemlich ausführlich die Geschichte der Erforschung der japanischen Alpenflora.”

Gallaud, J.

Revue des travaux sur les champignons phycomycètes et oomycètes parus de 1898 à 1906.

(In Revue gén. de bot. XIX (1907), p. 302—304, 350—352, 392—400, 426—432, 459—464, 557—559.)

Gaidukow, N.

Kurze historische Uebersicht der algologischen Forschungen in Russland.

(In Arbeiten d. Gesellsch. d. Naturfreunde in St. Petersburg, 1899, No. 29, p. 278—292 [Russian]; p. 324 [German].)

Habirshaw, Frederick.

Catalogue of the Diatomaceae. Part I. Edited and published by Romyn Hitchcock. New York, Thompson and Moreau, Printers, 1881—82.

Bibliography: p. V—XXII.

“Comprises all publications [on Diatomaceae] issued previous to the year 1881.”

Hauck, Ferdinand.

Die Meeresalgen Deutschlands und Oesterreichs. Leipzig, E. Kummer, 1885.

(Dr. L. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. II. Bd.)

Litteratur-Verzeichniss: p. XIII—XXIII.

Nordstedt, Carl Fredrik Otto.

Index desmidiacearum, citationibus locupletissimus atque bibliographia . . .

Berolini, Fratres Borntraeger, 1896.

[2], 310 p. 4to.

P. [3]—35: Bibliographia desmidiacearum (A. Libri; B. Collectiones exsiccatae editae.

Pelletan, Jules.

Bibliographie des diatomées.

(In his Les diatomées. Paris, Baillière, 1891, vol. II, p. 299—350b.)

Piccone, A.

Appendice al "Saggio di una bibliografia algologica italiana" del Prof. V. Cesati.

(In Nuovo giorn. botan. ital. XV (1883), fasc. 4, p. 313—327.)

Preda, A.

Bibliografia algologica per la "Flora italica cryptogama". Rocca S. Casciano, 1905.

41 p. 8º.

Exclusive of Diatomaceae; comprises 788 titles.

Robinson, Charles Budd.

The Chareae of North America.

(Bull. New York Bot. Garden, IV (No. 13), p. (244)—(308).) Sep.: Diss. Columbia Univ., w. sep. title-page and orig. pagin. New York, 1906. Bibliography of Characeae, with special reference to America: p. (298)—(306).

Tilden, Josephine E.

A contribution to the bibliography of American Algae.

(Minnesota Botanical Studies. Minneapolis, Minn. [Editor, Conway Mac Millan, State Botanist]. [Series I] (1894—1898), p. 295—421. Issued Aug. 26., 1895. — [The full entry for this first series of the Minn. Bot. Studies is as follows: Geological and Natural History Survey of Minnesota. Bulletin No. 9: Botanical Series. Vol. II, Series I.]

1544 + 10 titles, with descriptive notes. — Useful.

Wood, Horatio C., junior.

Bibliography [of Algae].

(In his A contribution to the history of the fresh-water Algae of North America (In Smithsonian contributions to knowledge, (vol. 19, Nr. 241. Washington, 1874) p. 235—247.)

Fungi.

1. General Micology.

Annales mycologici. 1903 —

Annales mycologici, editi in notitiam scientiae mycologicae universalis.

Hrsg. und redigirt von H. Sydow. Berlin, R. Friedländer & Sohn, 1903 —

Jahrg. I (1903) — In progress. Issued bi-monthly.

Each issue contains as a standard feature: "Neue Literatur."

Revue mycologique.

Recueil trimestriel illustré, consacré à l'étude des champignons et des lichens. Fondé par . . . C. Roumerguère.

Vol. I, Toulouse, 1879 — In progress.

Saccardo, Pier'Andrea.

Bibliotheca mycologica seu catalogus librorum qui in digerenda Sylloge praesto fuerunt.

(In his Sylloge fungorum I (1882), p. IX—XIX.)

— —. Supplementum.

(Ibid., X (1892), p. XI—XXX.)

A second supplement, by G. B. Traverso, appeared in 1905:

Bibliotheca mycologica seu catalogus librorum qui in digerenda Sylloge praesto fuerunt. Supplementum alterum.

(In Saccardo, P. A., Sylloge fungorum XVII (1905), p. IX—CVII.

— Sep., with orig. pagin.)

Hoffmann, Hermann.

Mykologische Berichte. Uebersicht der neuesten Arbeiten auf dem Gebiete der Pilzkunde. Giessen, J. Ricker, 1870.

VIII, 95 p. 8°.

Covers the years 1868—69.

Mykologische Berichte. Uebersicht . . . Pilzkunde. 1870. Giessen, J. Ricker, 1871.

2 l., 118 p. 8°.

Mykologische Berichte. Uebersicht . . . Pilzkunde. Für 1871. Giessen, J. Ricker, 1872.

2 l., 139 p. 8°.

Farlow, William G.

Bibliographical index of North American Fungi, by William G. Farlow . . . [Washington, D. C.] Publ. by the Carnegie Institution of Washington, 1905 —

Carnegie Institution of Washington. Publication No. 8.

Vol. I, part I: XXXV, 1—312 p. issued Sept. 1., 1905. Includes

A — *Badhamia granulifera*, Masee. — p. XXXV: Dates on which pages went to press.

Farlow, William G., and Trelease, William.

A list of works on North American Fungi. By W. G. Farlow and William Trelease. Cambridge, Mass. Issued by the Library of Harvard University, 1887.

36 p.

(Library of Harvard University. Bibliographical Contributions, ed. by Justin Winsor. No. 25.)

A supplemental list of North American Fungi. Cambridge, Mass., Issued by the Library of Harvard University, 1888.

9 p.

(Library of Harvard University. Bibliographical Contributions, ed. by Justin Winsor. No. 31. (Supplemental to No. 25.))

Gallaud, J.

Etudes sur les mycorhizes endotrophes.

(In Revue gén. de bot. XVII (1905), p. 5—48, 66—85, 123—136, 223—239, 313—325, 423—433, 479—496.)

Index bibliographique: p. 491—496. — Valuable.

Gueguen, Fernand.

Les champignons parasites de l'homme & des animaux. Généralités, classification, biologie, technique. Clefs analytiques, synonymie, diagnoses, histoire parasitologique, bibliographie. Paris, A. Joanin et Cie., 1904.

XVII, 299 p. incl. XII pl. 8°.

Index to North American Mycological Literature. 1890 —

Index to North American mycological literature, by David G. Fairchild.
(In Journ. of Mycol. VI (1890—91), p. 42—44, 80—87, 128—135,
184—191; VII (1891—94), p. 52—63, 153—194, 293—331, 400—430,
with lists of errata: 291—292, 431.)

Index to North American mycology (authors, titles, subjects, new species
and hosts, new names and synonyms) since January 1., 1901.

(In Journ. of Mycol., ed. by W. A. Kellerman, vol. 8 (1902) et seq.)

In each number; continued.

Also issued separately, in page form, printed on one side
of the paper.

Mc Alpine, Daniel.

List of works on Australian Fungi.

(In his Systematic arrangement of Australian Fungi . . . ,
Melbourne, Gov. Printer, 1895, p. 227—236.)

Pammel, L. H.

Bibliography [of fungi that attack roots and underground stems].

(In his Sclerotinia libertiana Fuckel, with a bibliography of fungus
root diseases (In Trans. Acad. Sci., St. Louis, VI (1892—1895),
p. 191—232), p. 196—232.)

Published Nov. 1., 1893.

Richter, Oswald.

Die Bedeutung der Reinkultur. Eine Literaturstudie. Berlin, Gebrüder
Borntraeger, 1907.

VIII, 128 p., illus. 8°.

Contains full and exact bibliographical data concerning the history
and present status of the pure culture system in mycology, pure
and technical.

Saccardo, P. A.; Penzig, O.; and Pirotta, R.

Bibliografia della micologia italiana.

(In Michelia, II (Patavii, 1882), p. 177—226.)

Sarauw, Georg F. L.

Literatur [om Rodsymbiose og Mykorrhizer].

(In his Rodsymbiose og Mykorrhizer, særlig hos Skovtræerne (In
Botanisk Tidsskrift XVIII (1893), p. 127—259; pl. XIII—XIV),
p. 247—256. Sep., with sep. t.-p. and pagin.)

157 titles. Not a full bibliography, but a list of the important
contributions to our knowledge of root-symbiosis, to support the
author's most excellent historical discourse on this subject. The
paper affords an example, worthy of consideration, of judicious use
of previous literature on the questions subject of investigation.
A parallel example is offered by Mac Dougal (1903); vide sub 6.

Some of the mycorrhiza-literature of later years is given by
J. Gallaud, in his paper on endotrophes (Revue gén. de bot. XVI
(1905), p. 491—496.

Traverso, Giovanni Battista.

Elenco bibliografico della micologia italiana. Rocca S. Casciano, Stabili-
mento tipografico Cappelli, 1903.

4 l., 118 p. 8°.

Traverso, Giovanni Battista.

Supplemento all' Elenco bibliografico della micologia italiana. Rocca S. Casciano, Stabilimento tipografico Cappelli, 1905.

17 p. 8°.

These two compilations afford a complement to Penzig, Pirotta and Saccardo, *Bibliografia della micologia italiana* (in *Michelia* II (1881), p. 177—226).

U. S. Department of Agriculture. — Library.

Reference list of publications relating to edible and poisonous mushrooms. Comp. by Josephine A. Clark . . . Washington, Government Printing Office, 1898.

16 p.

(Library. — Bulletin 20.)

Vuillemin, Paul.

Les bases actuelles de la systématique en mycologie.

(In *Progressus rei botanicae* II (1907), p. 1—170.)

A good survey, accompanied by literary references, of the modern development of systematic mycology.

Fungi.

2. Special Groups.

Berlese, Augusto Napoleone.

. . . Saggio di una monografia delle Peronosporacee . . . Portici, premiata stab. tip. vesuviano di E. Della Torre, 1903.

[2], 311 p. front. (port.), illus., pl. VII—X pl.

Bibliografia: p. 301—311. — "Sono citati soltanto e più importanti lavori di Biologia, Sistematica e Patologia vegetale fino al 1897."

Birch-Hirschfeld, F. V.

Die neueren pathologisch-anatomischen Untersuchungen über krankmachende Schmarotzerpilze.

(In Schmidt's Jahrbücher der in- und ausländischen gesammten Medicin, Bd. 155 (1872), p. 97—109.)

Claussen, P.

Über neuere Arbeiten zur Entwicklung der Ascomyceten.

(In *Berichte d. deutschen bot. Gesellsch.* XXVI (1906), p. (11)—(38).)

A collective review covering period since $\pm$ 1895.

Costantin, J.

Revue des travaux sur les champignons publiés en 1888.

(In *Rev. gén. de bot.* I (1889), p. 95—100, 155—164, 212—228.)

Revue . . . publiés en 1889 et 1890.

(*Ibid.* III (1891), p. 127—134, 176—188, 272—288, 317—325.)

Revue . . . publiés pendant les années 1891 à 1893.

(*Ibid.* VI (1894), p. 370—378, 411—423, 460—470; VII (1895), p. 45—48, 94—96, 139—144, 177—192.)

Fischer, Eduard.

Publikationen über die Biologie der Uredineen im Jahre 1907.

(In *Botan. Zeitung*, Jahrg. 66 (1908), Abth. II, p. 225—230.)

Humphrey, James Ellis.

The Saprolegniaceae of the United States.

(In Transact. Amer. Philosophical Soc. XVII (1893), p. 63—148.)

Bibliography of Saprolegniaceae, p. 140—143.

Klebahn, H.

Ueber den gegenwärtigen Stand der Biologie der Rostpilze.

(In Botan. Zeitung, 1898, II. Abth. col. 145—158.)

A collective review.

Literatur [über die wirtswechselnden Rostpilze].

(In his Die wirtswechselnden Rostpilze. Berlin, Gebr. Borntraeger, 1904 (i. e. 1903), p. IX—XXXVII.)

Mainly on Uredineae. Very useful.

Mc Alpine, Daniel.

Literature [on Uredineae].

(In his The rusts of Australia. Melbourne, 1906, p. 213—221.)

A very well selected list, for general purposes.

Matruchot, L.

Revue des travaux sur les champignons publiés en 1894, 1895, 1896 et 1897.

(In Rev. gén. de bot. X (1898), p. 261—266, 305—312, 483—490, 539—545; XI (1899), p. 353—368, 398—399, 471—494; XII (1900), p. 25—31, 456—464.)

Richter, Hermann Eberhard.

Die neueren Kenntnisse von krankmachenden Schmarotzerpilzen nebst phytophysiologischen Vorbegriffen. 1. Artikel.

(In Schmidt's Jahrbücher der in- und ausländischen gesammten Medicin, Bd. 135 (1867), p. 81—98.)

— — 2. Artikel.

(Ibid., Bd. 140 (1868), p. 101—128.)

— — 3. Artikel.

(Ibid., Bd. 151 (1871), p. 313—353.)

Conf. sub Birch-Hirschfeld, F. V.

Die neueren Kenntnisse von krankmachenden Schmarotzerpilzen in phytophysiologischer, pathologischer und sanitätlicher Hinsicht. 4. Artikel.

(Ibid., Bd. 159 (1873), p. 169—218.)

Wehmer, C.

Die Pilzgattung *Aspergillus* in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung unter besonderer Berücksichtigung der mitteleuropäischen Species. Mit 5 Tafeln . . . Mémoire couronné par la Société de Physique et d'Histoire naturelle de Genève (Prix De Candolle). Genève, Imp. Ch. Eggmann et Cie. 1901.

157 p., 1 l., 5 pl. 4to.

(Mém. Soc. de phys. et d'hist. nat. de Genève XXIII (2^{me} partie) No. 4.)

Litteratur: p. 5—15. — 164 entries.

Cf. Weidemann, in Centralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk., II. Abth. XIX (1907), p. 770.

Bacteria and Mycology of Fermentations.

Appendix: Fixation of Free Nitrogen.

Boutroux, Léon.

Revue des travaux sur les bactéries et les fermentations parus en 1888.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 653—666.)

Revue . . . pendant l'année 1889.

(Ibid. II (1890), p. 497—512.)

Revue . . . pendant 1890.

(Ibid. IV (1892), p. 122—134, 176—185.)

Revue . . . pendant l'année 1891.

(Ibid. V (1893), p. 424—434, 484—492; VI (1894), p. 30—40, 76—82.)

Revue . . . pendant l'année 1892.

(Ibid. VII (1895), p. 216—232, 270—277.)

Marmier, L.

Revue des travaux publiés sur la microbie et la fermentation pendant les années 1893 et 1894.

(In Rev. gén. de bot. VIII (1896), p. 266—272, 306—312, 337—352.)

Crookshank, Edgar March.

Bibliography [of bacteriology].

(In his Text-book of bacteriology . . . 4. ed. . . . Philadelphia, 1897, p. 639—665.)

Dietrich, A.

Ueberblick über unsere Kenntnisse von der Morphologie und Biologie der Bakterien.

(In Zeitschr. f. allgem. Physiologie III (1904), Referate p. 23—75.)

Collective review, with list of 305 papers.

Fuhrmann, Franz.

Der feinere Bau der Saccharomyceten zelle. [Eine kurze zusammenfassende Uebersicht.]

(In Centralbl. f. Bakt. u. Paras., Abth. II, Bd. XVI (1906), p. 629—639, 697—702, 736.)

An excellent collective review, incl. a list of 114 papers: p. 699—702.

Gährung ohne Hefezellen.

Collective reviews.

[I], by C. Wehmer.

(In Botan. Zeitung, Jahrg. 56 (1808), Abth. II, p. 57—61.)

II, by C. Wehmer

(Ibid., Jahrg. 57 (1899), Abth. II, p. 161—168.)

III, by J. Behrens.

(Ibid., Jahrg. 58 (1900), Abth. II, p. 181—186.)

IV, by J. Behrens.

(Ibid., Jahrg. 60 (1902), Abth. II, p. 273—279.)

V, by J. Behrens.

(Ibid., Jahrg. 61 (1903), Abth. II, p. 243—248.)

VI, by J. Behrens.

(Ibid., Jahrg. 66 (1908), Abth. II, p. 193—204.)

Guilliermond, Alexandre.

Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes levures. Lyon, A. Storck & cie.. 1902.

Index bibliographique: p. [277]—289.

Hefferan, Mary.

A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment.
(In *Centralbl. f. Bakt. u. Paras.*, Abth. II, Bd. 11 (1903—1904),
p. 311—317, 397—404, 456—475, 520—540.)

Contains a useful bibliography of chromogenic bacteria: p. 536—540.)

Hest, J. J. van.

Pseudovakuolen in Hefezellen und Züchtung von Pseudozellkernen außerhalb der Hefezellen.

(In *Centralbl. f. Bakteriolog. u. Parasitenk.*, II. Abth. XVIII (1907),
p. 767—790.)

Literatur: p. 788—790. Concerns mostly the histology of the saccharomycetaceous cell.

Jørgensen, Alfred.

Litteratur [über Mikroorganismen der Gärungsindustrie].

(In his *Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie*. 4. Aufl. Berlin, Parey, 1898, p. 293—344. — Also in his *Micro-organisms and fermentation*. Transl. by A. K. Miller and A. E. [sic, i. e. E. A.] Lennholm. 3. ed. London, Macmillan, 1900, p. 277—318. — Also in the previous editions of these books.)

Very useful, especially for the essential literature on the morphology and physiology of *Saccharomyces* and allied fungi.

Klöcker, Albert.

Litteraturübersicht [über die Gärungsorganismen].

(In his *Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe*. Stuttgart, Wögg, 1900, p. 280—308. — Also in his *Fermentation organisms*. Transl. by G. E. Allan and J. H. Millar. London; Longmans, Green, and Co., 1903, p. 347—381.)

Less comprehensive than Jørgensen's list, but judiciously annotated.

Kürsteiner, J.

Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien, sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt.

(In *Centralbl. f. Bakteriolog. u. Parasitenk.* II. Abth. v. XIX (1907),
p. 385—394.)

Literatur: p. 389—394.

Lasserre, Jacques.

Contribution à l'étude du genre *Nocardia* (g. *Streptothrix* Cohn). Description d'une espèce nouvelle. Toulouse, Lagarde & Sebillé, 1904.

145, [2] p., pl.

"Index bibliographique", p. [127]—142.

An excellent list of publications on *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Nocardia*.

Loeffler, Friedrich.

Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien. Für Aertzte und Studierende. Erster Theil. Bis zum Jahre 1878. Mit 37 Abbildungen im Text und 3 Tafeln. Leipzig, F. W. C. Vogel, 1887.

XII, 252 p., 3 pl. 8°.

No more published.

Exhaustive. The best guide to the earlier history and literature of general bacteriology.

Pammel, L. H.

Bacteria, their relation to modern medicine, the arts and industries.

(In Proceed. Iowa Acad. of Sciences for 1893, [Vol. I], p. 66—97.)

A very good review of the history of bacteriology, with references to important literature.

Reitz, Adolf.

Bakteriologische Butteruntersuchungen.

(In Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Abth. II, Bd. XVI (1906), p. 193—212.)

A collective review.

Weitere bakteriologische Untersuchungen mit der Stuttgarter Markt- und Handelsbutter.

(Ibid., p. 719—733, 776—794.)

Contains an excellent list of papers on bacteria in butter: p. 781—794.

Russell, H. L.

Bacteria in their relation to vegetable tissue.

(In the Johns Hopkins Hospital Reports. III (1893), p. 223—263.)

P. 257—263: "Appendix giving a list of the bacterial plant diseases, with brief résumé of their principal characteristics." This includes, for each form of bacteria given, a list of references, useful though not exhaustive.

Smith, Erwin F.

Bacteria in relation to plant diseases . . . Washington, D. C. Pub. by the Carnegie Institution of Washington.

Carnegie Institution of Washington. Publication Nr. 27. Sept., 1905. XII, 285 p. illus., 31 pl. incl. front. (ports).

Bibliography: p. 203—266.

Suringar, W. F. R.

De sarcine (sarcina ventriculi Goodsir); onderzoek naar de plantaardige natuur, den lichaamsbouw en de ontwikkelingswetten van dit organisme. Leeuwarden, G. T. N. Suringar, 1865.

V, 131 p. 3 tab. 4to.

Contains a list of the widely scattered literature 1842—1865, fide Suringar, Bot. Zeit. 1866, p. 269.

p. 124—129: Litterarisch overzicht.

Appendix 1.

Fixation of Free Nitrogen.

Atkinson, George F.

Contributions to the biology of the organism causing leguminous tubercles.

(In Bot. Gaz. XVIII (1893), p. 157—166, 226—237, 257—266. — Sep., with sep. cover and orig. pagin.)

Historical resumé: p. 226—237; comparative review, p. 257—266. — A useful critical review of the important botanical literature on the subject.

Lutz, Louis.

Index bibliographique [des micro-organismes fixateurs d'azote].

(In his Les microorganismes fixateurs d'azote (morphologie et biologie. Paris, Lechevalier, 1904, p. 163—183.)

Mac Dougal, D. T.

Titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants.

(Minnesota Botanical Studies. Minneapolis, Minn. [Editor, Conway Mac Millan, State Botanist]. [Series I] (1894—1898), p. 186—221. Issued Sept. 27., 1894. — [See note under Tilden, Josephine E.]

Not annotated. Incomplete, but useful. A supplementary list was projected; see Schneider, Albert.

Rossi, Gino de'.

Ueber die Mikroorganismen, welche die Wurzelknöllchen der Leguminosen erzeugen.

(In Centralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. II. Abth. v. XVIII (1907), p. 289—314, 481—489.)

Literatur: p. 483—488 (165 entries).

Russell, H. L.

[Review of the literature of 1892 on the assimilation of free nitrogen by the action of bacteria.]

(In Bot. Gaz. XIX (1894), p. 284—293.)

Schneider, Albert.

The phenomena of symbiosis.

(Minnesota Botanical Studies. Minneapolis, Minn. [Editor, Conway Mac Millan, State Botanist]. [Series I] (1894—1898), p. 923—948. Issued May 31., 1897. — [See note under Tilden, Josephine E.]

Pag. 945—948: "Appendix. Titles of literature concerning the fixation of free nitrogen of plants . . . a continuation of those given by Mac Dougal . . ."

Outline of the history of leguminous root-nodules and Rhizobia with titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants. III.

(Minnesota Botanical Studies. Minneapolis, Minn. [Editor, Conway Mac Millan, State Botanist]. Third Series (1903 —), p. 133—139. Issued July 3., 1903. — [See note under Tilden, Josephine E.]

Formally, there are no parts I and II corresponding to this III. But this and the foregoing paper serve as supplements to Mac Dougal's compilation (q. v.). Together, the three papers contain some 780 titles.

Appendix 2.

Plankton.

Apstein, Carl.

Das Süßwasserplankton, Methode und Resultate der quantitativen Untersuchung. Kiel u. Leipzig, Lipsius & Tischer, 1896.

200 p. and 5 tables.

"Es folgen zum Schluss . . . ein Litteraturverzeichnis mit 110 Nummern . . ."

Dalla Torre, K. W. von.

Bericht über die Literatur der biologischen Erforschung des Süßwassers in den Jahren 1901 und 1902.

(In Forschungsberichte d. Biol. Station Plön XII (1905), p. 354—418).

Zacharias, O.

Zur hydrobiologischen Literatur.

(In Archiv f. Hydrobiol. u. Planktonkunde II (1906—07), p. 372—390.)

Lists of publications of E. Penard, O. Zacharias, and E. Lemmermann.

6. Plant Physiology. Phenology. Biology. Nature Study.*Jahresbericht . . . der physiologischen Botanik. 1834—1846.*

Jahresbericht über die Resultate der Arbeiten im Felde der physiologischen Botanik von dem Jahre 1834, von F. J. F. Meyen.

(In Archiv für Naturgeschichte (Wiegmann) 1835, I, p. 133—251.)

Jahresbericht . . . 1835, von F. J. F. Meyen.

(Ibid., 1836, II, p. 15—130, 159—162.)

Jahresbericht . . . 1836, von F. J. F. Meyen.

(Ibid., 1837, II, p. 16—125.)

Jahresbericht . . . der physiologischen Botanik. 1837—1846.

Jahresbericht . . . 1837, von F. J. F. Meyen.

(Ibid., 1838, II, p. 1—186.) Also sep. with sep. title-page and pagin.

Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1838. — VI, 186 p. 8°.

Jahresbericht . . . 1838, von F. J. F. Meyen.

(Ibid., 1839, II, p. 1—152.) Also sep. with sep. title-page and pagin.

Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1839. — VI, 153 p. 8°.

Jahresbericht . . . 1839, von F. J. F. Meyen.

(Ibid., 1840, II, p. 1—184.) Also sep. with sep. title-page and pagin.

Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1840. — VIII, 184 p. 8°.

Jahresbericht über die Arbeiten für physiologische Botanik im Jahre 1840, von Dr. H. F. Link.

(Ibid., 1841, II, p. 333—433.) Also sep., with sep. title-page and pagin (double). Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1842. — 1 l., 101 p. 8°.

Jahresbericht . . . 1841, von Dr. H. F. Link.

(Ibid., 1842, II, p. 89—167.) Also sep., with sep. title-page and pagin (double). Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1843. — 1 l., 79 + 1 p. 8°.

Jahresbericht . . . in den Jahren 1842 und 1843, von Dr. H. F. Link.

(Ibid., 1844, II, p. 1—132.) Also sep., with sep. title-page and pagin. Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1844. — 1 l., 132 + 1 p. 8°.

Jahresbericht . . . in den Jahren 1844 und 1845, von Dr. H. F. Link.

(Ibid., 1846, II, p. 1—112.) Also sep., with sep. title-page and pagin. Berlin, In der Nicolai'schen Buchhandlung, 1846. — 2 l., 112 p. 8°.

Jahresbericht über die Leistungen im Gebiete der physiologischen Botanik während des Jahres 1846, von Julius Münter.

(Ibid., 1847, II, p. 209—336.) Also sep., with sep. title-page and pagin (double). Berlin, Verlag der Nicolai'schen Buchhandlung, 1849. — 1 l., 128 p. 8°.

Jahresbericht . . . der physiologischen Botanik. 1837—1846.

Translations:

Report on the progress of physiological botany during the year 1841.

Transl. by E. Lankester.

(In Reports on the progress of zoology and botany 1841, 1842. London, Ray Society, 1845. Separately pagged: [1]—104.)

Report . . . botany for the years 1842 and 1843. Transl. by J. Hudson.

(In Reports and papers on botany. London, Ray Society, 1846, p. 293—440.)

Annual report on researches in physiological botany during the years 1844 and 1845.

(In Reports and papers on botany, ed by Arthur Henfrey. London, Ray Society, 1849, p. 191—313.)

Duchartre, P.

Rapport sur les progrès de la botanique physiologique. Publication faite sous les auspices du Ministère de l'Instruction publique. Paris, Imprimerie impériale, 1868.

2 l., 409 p. 8°.

At head of title and added title-page: "Recueil de rapports sur les progrès des lettres et des sciences en France."

A very able, critical exposition of the development of vegetable physiology, anatomy and morphology in France, since about 1843.

Jumelle, Henri.

Revue des travaux de physiologie végétale parus en 1889 jusqu'en Juillet 1889.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 487—500, 537—540.)

Revue . . . parus de Juillet 1889 à Avril 1890.

(Ibid. II (1890), p. 280—288, 321—336, 359—367.)

Revue . . . parus d'Avril 1890 à Juin, 1891.

(Ibid. III (1891), p. 326—335, 361—368, 389—400, 437—448, 534—548; IV (1892), p. 22—30.)

Revue . . . parus de Juin, 1891 à Août, 1893.

(Ibid. VI (1894), p. 123—135, 186—192, 212—221, 273—287, 310—320, 345—352, 379—384, 424—432, 471—479, 528—534; VII (1895), p. 27—44, 85—93, 172—176, 233—240, 278—288, 315—320, 343—352, 389—399, 420—432, 476—480.)

Griffon, E.

Revue des travaux de physiologie et de chimie végétales parus de 1893 à 1900.

(In Revue génér. de bot. XIII (1901), p. 137—144, 227—234, 276—284, 326—330, 364—368, 411—416, 442—448, 476—496, 525—539; XIV (1902), p. 45—48, 92—96, 138—144, 189—192, 235—240, 280—288, 333—336, 364—368, 391—400, 440—448, 544—554; XV (1903), p. 90—96, 138—144, 275—288, 418—432, 498—500.)

Abbado, Michele.

L'ibridismo nei vegetali; studio bibliografico.

(In Nuovo giorn. bot. ital., n. s. V, p. 76—105; 265—303.)

Barfuth, Dietrich.

Das Regenerationsvermögen der Kristalle und der Organismen.

(In Centralbl. f. d. ges. Biol. II. Abt.: Biophysikal. Centralbl. I (1905—06), p. 281—291, 341—351, 537—544, 569—582, 633—643.)

A collective review of recent literature. P. 341—351: Regeneration in plants et alia.

Bateson, W.

The progress of genetics since the rediscovery of Mendel's papers.

(In *Progressus rei botan.* I (1907), p. 368—418.)

Bay, J. Christian.

Materials for a monograph on inuline.

(In *Transact. Acad. Sci. St. Louis*, VI (1892—1895), p. 151—159. —
Issued as vol. VI, No. 6, in sep. covers. Published March 2., 1893.)

Material for a monograph on the tannoids, with special reference to
vegetable physiology.

(In *Fifth Annual Report*, Missouri Bot. Garden [for the year 1893]
(1894), p. 61—87. — Sep., with sep. covers and pagin. 1—27.)

Benecke, W.

Einige neue Untersuchungen über den Einfluss von Mineralsalzen auf
Organismen.

(*Bot. Zeit.* LXII (1904), II. Abth., p. 113—126.

A collective review.

Braemer, L.

Les tannoides. Introduction critique à l'histoire physiologique des tannins
et des principes immédiats végétaux qui leur sont chimiquement alliées.
Toulouse, Lagarde et Sebille, 1891.

Burgerstein, Alfred.

Materialien zu einer Monographie betreffend die Erscheinungen der
Transpiration der Pflanzen. Theil I—III.

Theil I: *Verhandl. zool.-bot. Gesellsch. in Wien*, XXXVII (1887): 691—780.

Theil II: *Ibid.*, XXXIX (1889): 399—463.

Theil III: *Ibid.*, XLI (1901): 49—106.

Contain an exhaustive list of publications (I: to May, 1887; II,
from then to May, 1889; III, from then to 1900 incl.) with descriptive and
critical annotations, and a systematic historical review of the subject.
Excellent in plan and execution.

Die Transpiration der Pflanzen. Jena, G. Fischer, 1904.

X, 283, [1] p. illus. 8°.

"Literaturnachweise", p. 251—283.

Übersicht der Untersuchungen über die Wasseraufnahme der Pflanzen
durch die Oberfläche der Blätter. Wien, 1891.

45 p. 4to.

(Wien II. Erzherzog Rainer Gymnasium. Programm, 1891.)

Entwicklung der Anatomie und Physiologie der Pflanzen in Oesterreich
von 1850 bis 1900.

(In *Botanik und Zoologie in Österreich in den Jahren 1850 bis 1900*,
hrsg. von der Zool.-Bot. Ges. in Wien. Wien, 1901, p. 219—246.)

Buscalioni, Luigi.

Indice bibliografico [degli studi sui cristalli di ossalato di calcio].

(In *Malpighia* X (1895), p. 149—159.)

Inexact, but useful.

Buscalioni, Luigi, and Pollacci, Gino.

Le antocianine e il loro significato biologico nelle piante.

(In *Atti dell' Istituto bot. dell Univ. de Pavia*, ser. 2, VIII (1904),
p. 135—511; tav. VII—XV.)

Parte I (p. 137—166): Bibliografia dell' argomento. — 866 entries;
very valuable for study of color compounds in plants.

Candolle, Casimir de.

Sur les feuilles peltées.

(In Bull. Soc. bot. de Genève, IX: 1898—1899, p. 1—51.)

A literary survey of all plants with this peculiarity.

Cannon, William Austin.

List of more important recent works on plant hybrids.

(In his Studies in plant hybrids: the spermatogenesis of hybrid peas (In Bull. Torrey Bot. Club, XXX (1903), p. 519—543; pl. 17—19.

— Also issued (sep.) as Contrib. New York Bot. Gard. No. 45), p. 534—541.)

Copeland, Edwin Bingham.

Bibliography [of transpiration].

(In Bot. Gaz. XXXIV (1902), p. 274—283.)

Correns, C.

Neue Untersuchungen auf dem Gebiet der Bastardierungslehre. (Herbst 1901 bis Herbst 1902.) Sammelreferat.

(In Botan. Zeitung 1903, II. Abth., col. 113—126.)

Reprinted in Botan. Centralbl. XCII (1903), p. 481—488.

Czapek, Friedrich.

Die Ernährungsphysiologie der Pflanzen seit 1896.

(In Progressus rei botan. I (1907), p. 419—532.)

Dierbach, J. H.

Ueberblick der neuesten Leistungen in der Anatomie und Physiologie des Gewächsreiches.

(In Flora, 1827, I, p. 352—368.)

Elfving, Frederik.

Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. Helsingfors, Helsingfors Central-Druckerei, 1890.

2 l., p. 3—141, 5 pl. 8°.

Cap. I: Angaben in der Litteratur, p. 3—24. Contains a valuable review of previous work on the influence of light on fungi (excl. of bacteria).

Errera, Leo.

Bibliographie du glycogène et du paraglycogène.

(In Recueil de l'Institut botanique de Bruxelles, Tome I (1905), p. 381—429.) — Sep., with sep. title-page and orig. pagin.: Bruxelles, Hayez, Imprimeur des académies royales, 1905.

Edited after author's death by J. W. C[ommelín].

Bibliographie des alcaloïdes, glycosides, tannins, etc.

(Ibid. II (1906), p. 374—415.)

Fechner, Gustav Theodor.

Resultate der bis jetzt unternommenen Pflanzenanalysen. Leipzig, Voss, 1829. VIII, 351 p. 8°.

Very useful for references to early literature.

Fitting, Hans.

Die Reizleitungsvorgänge bei den Pflanzen. Eine physiologische Monographie. Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1907.

XV, 157 p. 8°.

“Sonderabdruck aus: Ergebnisse der Physiologie, herausgegeben von L. Asher und K. Spiro, IV. und V. Jahrgang.” — A collective review of older and later investigations, with comprehensive lists of literature. Indispensable.

Hansen, Ad.

Geschichte der Assimilation und Chlorophyllfunction.

(In Arbeiten Bot. Inst. Würzburg. II (Heft 4, 1882), p. 537—626.)

Cf. Pringsheim, N. Ueber Chlorophyllfunction und Lichtwirkung in der Pflanze (in Jahrbücher für wissensch. Botanik XIII (1882), p. 377—490).

Heinze, Berthold.

Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. [Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen.]

(In Centralbl. f. Bakteriöl. u. Paras. Abt. II, Bd. XII (1904, p. 43—81, 177—191, 355—371.)

Both the introduction (p. 43—52) and the text proper contains very full references to the literature of the subject.

Klebs, Georg.

Beiträge zur Morphologie und Biologie der Keimung.

(In Untersuch. Bot. Inst. Tübingen. I (1881—1885), p. 536—635.)

Litteraturverzeichniss [über die Morphologie der Keimung sowie über den Bau der Samen]: p. 615—631.

Kohl, F. G.

Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Leipzig, 1902.

VIII, 206 p. 8°.

Citirte und benutzte Litteratur: p. 161—197. — 772 entries, covering physiological chemistry of organic color compounds.

Kolkwitz, R.

Die Bewegung der Schwärmer, Spermatozoiden und Plasmodien und ihre Abhängigkeit von äusseren Faktoren. Sammelreferat (1885—1896).

(In Botan. Centralbl. LXX (1897), p. 184—192.)

Zur Kenntniss der neueren Arbeiten über die Befruchtungsvorgänge bei den Siphonogamen (1897—1899 incl.).

(In Botan. Jahrb. (1901), Litteraturbericht, p. 1—5.)

Ludwig, F.

Ueber Variationspolygone und Wahrscheinlichkeitscurven.

(In Beihefte z. Botan. Centralbl. IX (1900), p. 89—111.)

— Nachtrag.

(In Botan. Centralbl. LXXXII (1900), p. 45—46.)

Mac Dougal, Daniel Trembly.

The influence of light and darkness upon growth and development . . . New York, 1903.

XIII, 319 p. illus.

(Memoirs of the New York Botanical Garden. Vol. II.)

p. 1—35: Historical resumé, chronologically arranged, of previous investigations on relations of plants to light. Not intended to be complete, but very useful. — The index includes a rearrangement, by authors, of the literature cited.

Marquart, J. Cl.

Bericht über die Fortschritte der Phytochemie im Jahre 1835, insofern sie auf Pflanzen-Physiologie Bezug haben.

(In Archiv für Naturgeschichte (Wiegmann) 1836. II, p. 131—159.)

Miehe, Hugo.

Neuere Arbeiten auf dem Gebiete der pflanzlichen Descendenz- und Bastardierungslehre.

(In Zeitschr. f. allgem. Physiologie IV (1904), Referate p. 25—54.)

Moebius, M.

Die neuesten Untersuchungen über Antherozoidien und den Befruchtungsprocess bei Blütenpflanzen.

(In Biol. Centralbl. XIX (1899), p. 473—484.)

Ono, K.

Studies on some extranuptial nectaries.

(In Journ. Coll. Sci., Imp. Univ., Tōkyō, Japan, XXIII, Article 3.)

Literature on extranuptial nectaries: p. 22—28.

Pedersen, Rasmus.

Planternes Næringsstoffer. Forelæsninger holdte ved Kjöbenhavns Universitet . . . Historik Indledning. Kjöbenhavn, P. G. Philipsen, 1883.

3 l., IV, 343 p. 8°.

Added title-page: Forelæsninger over Plantefysiologi holdte ved Kjöbenhavns Universitet. I. Planternes Næringsstoffer. Historisk Indledning. Kjöbenhavn, P. G. Philipsen, 1883. [No more published.]

A history of the nutrition of plants from ancient times to 1861. — The particular lectures on which this volume was founded were held in February and March 1880. At that time the author began a continued series of lectures on plant physiology intended to cover the subject as completely as did the famous lectures of Aug. P. De Candolle. Pedersen continued his lectures almost until his death in 1905. Every subject was treated monographically, every available series of experiments explained, criticised and debated. All the literature was demonstrated.

Pollock, James B.

The mechanism of root-curvature.

(In Bot. Gaz. XXIX (1900), p. 1—63.)

Bibliography: p. 60—63.

Putter, August.

Leuchtende Organismen.

(In Zeitschr. f. allgem. Physiologie V (1905), Referate p. 17—53.)

With a list of papers.

For older literature comp. Ehrenberg, Das Leuchten des Meeres, in Abhandl. d. k. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1836, p. 389—571; also the historical chapters in Molisch, Leuchtende Pflanzen, Jena, 1904.

Rauwenhoff, N. W. P.

Onderzoek naar de betrekking der groenen plantendeelen tot de zuurstoff en het koolzuur des dampkrings onder den invloed van het zonnelicht. Amsterdam, Van Heteren, 1853.

268 p., 1 pl. 8°.

An excellent historical review of the relations between the green parts of plants and the oxygen and carbon dioxide of the atmosphere, is contained in the first part.

Rothert, Władysław.

Die Streitfrage über die Funktion der Wurzelspitze. Eine kritische Litteraturstudie.

(In Flora, Bd. 79 (Ergänzungsbd. z. Jahrg. 1894), (1894 p. 179—218.)

Schroeder, H.

Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf lebende Zellen, Enzyme und Toxine. Sammelreferat.

(In Bot. Zeit. LXIII (1905), II. Abth., p. 129—138.)

Schroeder, H.

Über Atmungsenzyme (Sammelreferat).

(In Botan. Zeitung, Jahrg. 66 (1908), Abt. II, p. 273—280.)

Schrötter-Kristelli, Hermann Ritter.

Ueber ein neues Vorkommen von Carotin in der Pflanze, nebst Bemerkungen über die Verbreitung, Entstehung und Bedeutung dieses Farbstoffes.

(In Botan. Centralbl. LXI (1895), p. 33—46.

Litteratur-Verzeichniss: p. 43—46. „... auf die neueren Arbeiten möglichst vollständig; ...“

Snow, Laetitia Morris.

Bibliography [of root hairs].

(In Bot. Gaz. XL (1905), p. 43—47.)

Stevens, Frank L.

Gametogenesis and fertilization in Albugo.

(In Bot. Gaz. XXXII (1901), p. 77—98, 157—169, 238—261.)

Bibliography: p. 255—258.

Trimble, Henry.

Index to the literature of the tannins.

(In his The tannins; a monograph on the history, preparation . . . of the vegetable astringents . . . Philadelphia, Lippincott, 1892—1894. — Vol. I (1892), p. 101—165; vol. II (1894), p. 135—170.)

Herein is absorbed the bibliography of the same subject, by J. Christian Bay, 1894; vide sup.

Vallot, Joseph.

Recherches physico-chimiques sur la terre végétale et ses rapports avec la distribution géographique des plantes. Paris, J. Lechevalier, 1883. 8°.

Bibliographie: p. 1—62, 340.

Vandervelde, A. J. J.

De kieming der zaadplanten (Spermatophyten). Morphologie en physiologie . . . Eerste Stuk. Gent, E. van Goethem, 1896.

136 p. 8°.

“Onze verhandeling is op de volgende wijze ingedeeld: 1^e deel. — Bibliographie. — 1^e hoofdstuk. Lijst van boeken en verhandelingen omtrent de morphologie en de physiologie der kieming.” — This list contains 2144 titles and is largely annotated.

Winkler, Hans.

Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche.

(In Progressus rei botan. II (1903), p. 293—454.)

With a bibliography of 239 entries.

Wolff, Emil Th.

Quellen-Literatur der theoretisch-organischen Chemie oder Verzeichniss der vom Anfang des letzten Viertels des vorigen Jahrhunderts bis zum Schluss des Jahres 1844 ausgeführten chemischen Untersuchungen über die Eigenschaften und die Constitution der organischen Substanzen, ihrer Verbindungen und Zersetzungsprodukte. Mit steter Berücksichtigung der Literatur der Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur, Physiologie und Pathologie . . . Halle, E. Anton, 1845.

XII, 808 col.

Wolff, Emil Th.

Analytical, classified catalogue of 25 periodicals. Each unit of classification separately indexed (by authors); general index rerum at end of book. Very accurate and useful both in chemistry and in plant physiology, as it covers the formative period of the latter science when numerous important papers were published in chemical periodicals.

Col. 693—709: Ernährung, Keimen und Wachsen der Pflanzen.

Price: $\pm$ Mk. 6.

Die chemischen Forschungen auf dem Gebiete der Agricultur und Pflanzenphysiologie. Ein Supplementband für die Lehrbücher der Agriculturchemie, physiologischen Chemie und der rationellen Landwirtschaft . . . Leipzig, J. A. Barth, 1847.

VIII, 549 p.

Copious foot-rottes giving references and historial recapitulations. Excellent reference-work for earlier literature on plant nutrition, plant chemistry and physiology of soils.

PHENOLOGY.

Ihne, Egon.

Geschichte der pflanzenphänologischen Beobachtungen in Europa nebst Verzeichniss der Schriften, in welchen dieselben niedergelegt sind . . .

(Beiträge zur Phänologie. Giessen, Ricker, 1884, p. 1—178.)

cf. Drude, O., Deutschlands Pflanzengeographie, 1896, p. 425—427.

Hoffmann, H.

Phänologische Beobachtungen.

(In Ber. d. Oberhess. Gesellsch. f. Natur- u. Heilkunde, No. 24 (1886).

Continued in: Nrs. 25 (1887); 26 (1889), 27 (1890); 28 (1892), p. 12 and 37.)

Each of these reports has a list, international in scope, of literature on phenology covering the year previous.

Ihne, Egon.

Phänologische Beobachtungen (Jahrgang 1891).

(Ibid. No. 29 (1893).)

The list of literature for this report was begun by Hoffmann and completed by Ihne.

— (Jahrgang 1892.)

(Ibid. No. 30 (1895).)

— (Jahrg. 1894.)

(Ibid. No. 31 (1896).)

Includes the year 1893.

— (Jahrg. 1895.)

(Ibid. No. 31 (1896).)

— (Jahrg. 1896.)

(Ibid. No. 32 (1897—99).)

— (Jahrg. 1897.)

(Ibid. No. 32 (1897—99).)

— (Jahrg. 1898.)

(Ibid. No. 33 (1899—1902).)

— (Jahrg. 1899.)

(Ibid. No. 33 (1899—1902).)

— (Jahrg. 1900.)

(Ibid. No. 34 (1905).)

— (Jahrg. 1901.)

(In Abhandl. d. Naturhist. Gesellsch. zu Nürnberg XIV (1902).)

PHENOLOGY.

Ihne, Egon.

Phänologische Beobachtungen (Jahrgang 1902).

(Ibid. XV (1903).)

— (Jahrg. 1903.)

(Ibid. XV (1904).)

— (Jahrg. 1904.)

(Ibid. XV (1905).)

— (Jahrg. 1905.)

(Ibid. XVI (1906).)

— (Jahrg. 1906.)

(Ibid. XVII (1907).)

— (Jahrg. 1907.)

(In Beilage zur Hessischen Landwirtschaftl. Zeitschrift, 1908.)

Yearly lists of literature, as above stated.

BIOLOGY.

Campagna, Giuseppe.

Contribuzione alle storia letteraria della disseminazione.

(In Nuov. giorn. bot. Ital., n. s. XII (1905), p. 657—671.)

Covers period of 1891—1902.

Addenda alla bibliografia di Fanny Mac-Leod sulla disseminazione.

(In Malpighia XX (1906), p. 480—486.)

Knuth, Paul.

Handbuch der Blütenbiologie . . . Leipzig. W. Engelmann. Bd. I, 1898; Bd. II, Th. 1—2, 1898—1899; Bd. III, Th. 1—2, 1904—1905.

Blütenbiologische Litteratur, Bd. I, p. 263—381.

Translation:

Handbook of flower pollination . . . Transl. by J. R. A. Davis . . . London, 1906 —

Vol. I. 1906.

Bibliography of flower pollination, vol. I, p. 212—380.

Loew, E.

Blütenbiologische Floristik des mittleren und nördlichen Europa, sowie Grönlands. Systematische Zusammenstellung des in den letzten zehn Jahren veröffentlichten Beobachtungsmaterials. Stuttgart, F. Enke, 1894.

VIII, 424 p. 8°.

Contains a list of some 300 references, alphabetically arranged.

McLeod, Fanny.

Lijst van boeken, verhandeligen enz. over de verspreidingsmiddelen der planten van 1873 tot 1890 verschenen; vervolg op de lijst door d'Arcy W. Thompson in 1883 uitgegeven, mit een bijvoegsel en een alphabetisch repertorium der plantennamen.

(In Dodonaea, III (1891), p. 192—231.)

Pammel, L. H.

On the pollination of *Phlomis tuberosa* L., and the perforation of flowers. (In Trans. Acad. Sci., St. Louis, V (1886—1891), p. 241—277!)

Published June 28., 1888. — Also issued as Contributions from the Shaw School of Botany, Nr. 1.

List of papers: p. 265—273. — List of perforated flowers [quoted in literature]: p. 273—277.

BIOLOGY.

Thompson, D'Arcy W.

Bibliography [of fertilization of flowers].

(In Müller, Hermann (Lippstadt), The fertilization of flowers, tr. and ed. by D'Arcy W. Thompson. London, Macmillan, 1883, p. 599—634.)

Over 809 entries, chronologically arranged.

See also MacLeod, Fanny.

NATURE STUDY.

Bay, J. Christian.

Nature study and the small libraries.

(In Public Libraries (Chicago), XI (1906), p. 315—316.)

A bibliography of the more important publications, especially periodical, on nature study.

U. S. Department of Agriculture. Office of Experiment Stations.

Circular No. 52: A few good books and bulletins on nature study, school gardening, and elementary agriculture for common schools, by D. J. Crosby. [Washington, D. C., 1903.]

4 p. 8°.

7. Palaeobotany.

Saporta, G. Marquis de.

Revue des travaux de paléontologie végétale parus en 1888 ou dans le cours des années précédentes.

(In Rev. gén. de bot. I (1889), p. 541—548, 582—596, pl. 25; II (1890), p. 176—192, 225—238, pl. 11—14.)

Revue . . . parus en France dans le cours des années 1889—1892.

(Ibid. V (1893), p. 119—125, 172—180, 230—234, 265—275, 316—327, (355—366; pl. III—VI.)

Zeiller, A.

Revue des travaux de paléontologie végétale publiés dans le cours des années 1893—1896.

(In Rev. gén. de bot. IX (1897), p. 324—336, 360—384, 399—416, 449—462; X (1898), p. 26—32, 69—80.)

Revue des travaux de paléontologie végétale publiés dans le cours des années 1897—1900.

(In Revue gén. de bot. XIV (1902), p. 427—435, 487—496, 539—543; XV (1903), p. 39—48, 83—89, 125—137, 186—192, 235—240, 328—336, 393—400, 470—480.)

Arber, E. A. Newell.

Bibliography of literature on palaeozoic fossil plants, including some of the more important memoirs published between 1870—1905.

(In Progressus rei botan. I. Jahrg. (1907), p. 218—242.)

"This bibliography is not, in any sense, complete. To compile an exhaustive list of the Literature would require many months of continuous labor."

Etheridge, Robert, and Jack, Robert Logan.

Catalogue of works, papers, reports, and maps, on the geology, palæontology, mineralogy, mining and metallurgy, etc., of the Australian continent and Tasmania. London, 1881.

II, 196 p. 8°.

Incidentally of palæobotanical interest.

Hovelacque, M.

Recherches sur le *Lepidodendron Selaginoides* Sternb.

(In Mém. de la Soc. Linnéenne de Normandie XVII (Caen, 1892), [165 p., tab. I—VII.]

"Die Besprechung der Litteratur allein . . . Seiten 7—32 . . ."

Laurent, L.

Les progrès de la paléobotanique angiospermique dans la dernière décade.

(In *Progressus rei botan.* I (1907), p. 319—367.)

Meschinelli, A. and Squinabol, X.

Flora tertiaria italica. Patavii, Sumptibus auctorum, 1892.

Contains: *Bibliotheca palaeophytologica italica*, 425 mrs.

Scott, D. H.

The present position of palaeozoic botany.

(In *Progressus rei botan.* I. Jahrg. (1907), p. 139—217.)

Seward, A. C.

Fossil plants. Cambridge, 1898. 8°.

List of works: p. 414—440.

Solms-Laubach, Hermann, Graf zu.

Einleitung in die Paläophytologie vom botanischen Standpunkte aus. Leipzig, A. Felix, 1887.

Engl. transl. Fossil botany. Oxford, 1891. 8°.

List of publications: p. 383—389.

Ward, Lester F.

Sketch of paleobotany.

(In U. S. Geological Survey. Fifth annual report (1883—84), 1885, p. 357—469; 3 pl.)

Contains numerous bibliographical data and biographical sketches of twenty-two paleobotanists.

Zeiller, R.

Les progrès de la paléobotanique de l'ère des gymnospermes.

(In *Progressus rei botanicae* II (1907), p. 171—226.)

8. Economic Botany.

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. Hrsg. von . . . M. Hollrung. Berlin, P. Parey.

I: 1898. Pub. 1899.

II: 1899. Pub. 1900.

III: 1900. Pub. 1902.

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten . . .

IV: 1901. Pub. 1903.

V: 1902. Pub. 1904.

VI: 1903. Pub. 1905.

VII: 1904. Pub. 1905.

VIII: 1905. Pub. 1907.

Jahresbericht über das Gebiet der Pflanzenkrankheiten . . .

IX: 1906. Pub. 1908.

Bailey, L. H.

Bibliography [of plant breeding].

(In his *Plant-breeding*. 4. ed. New York, 1906, p. 365—477.

"Confined largely to horticultural writings. — The literature of cross-fertilization . . . itself has been omitted." — A very useful list; period covered: 1724—1905.

Fischer-Benzon, Rudolf J. D. von.

Altdeutsche Gartenflora. Untersuchungen über die Nutzpflanzen des deutschen Mittelalters, ihre Wanderung und ihre Vorgeschichte im klassischen Altertum. Kiel und Leipzig, Lipsius & Tischer, 1894.

X, 254 p. 8^o.

P. 1—26: Allgemeines, Hilfsmittel und Quellen.

The introduction forms an excellent conspectus of sources, elucidating the history of cultivated plants and the interpretation of historical testimony on this subject.

Zur Geschichte unseres Beerenobstes.

(In *Botan. Centralbl.* LXIV (1895), p. 321—328, 369—376, 401—411.)

Haselhoff, E.

Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten über Rauchbeschädigungen.

(In his *Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch.* Leipzig, 1903, p. 395—400.)

Henry, E.

Revue des travaux de botanique forestière publiés en 1888 et 1889.

(In *Rev. gén. de bot.* II (1890), p. 137—144.)

Revue . . . en 1890, 1891 et 1892.

(*Ibid.* V (1893), p. 126—135.)

Jackson, Benjamin Daydon.

Vegetable technology, a contribution towards a bibliography of economic botany, with a comprehensive subject-index . . . Founded upon the collections of George James Symons . . . London, Published for the Index Society by Longmans, Green & Co. . . , 1882.

XII, 355 p. sm. 4to.

(Index Society. Publications. XI.)

Maiden, J. H.

Bibliography of Australian economic botany. Part I. Sydney, Government Printer, 1892.

61 p. roy. 8^o.

(New South Wales. Department of Public Instruction. Technical Education Series. No. 10.)

Schneider, Albert.

Literature on medicinal plants and drug-plant culture.

(In *Pharmaceutical Review (Milwaukee)* XXVI (1908), p. 201—214; 236—245.)

Sormanni, Giacomo.

Catalogo ragionato delle opere di viticoltura ed enologia pubblicate in Italia o in italiano del principio della stampa sino a tutto l'anno 1881. Milano, Gernia, 1882.

16 p. 8°.

Stirt, A.

Mitteilungen über im Jahre 1906 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten auf dem Gebiete der Zuckerrübenkrankheit.

(In Centrbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. II. Abth. XIX (1907), p. 289—310.)

Sturgis, W. C.

Literature of fungous diseases . . . A provisional bibliography of the more important works published by the U. S. Department of Agriculture and the agricultural experiment stations of the United States from 1887 to 1897 inclusive, on fungous and bacterial diseases of economic plants.

(In Twenty-first annual report, Connecticut Agricult. Experiment Station for 1897. New Haven, 1898, p. 182—222.)

Grown out of an earlier compilation of the same scope, and by the same author, which was published, in 1893, as Bulletin No. 118 (also in the seventeenth ann. report) of the same station. — Arranged alphabetically by the names of the cultivated plants subject of attack.

Subject Index of Experiment Station Literature, 1876 —

Subject Index of Experiment Station literature [for the United States of America]. Edited and published by the Office of Experiment Stations, Department of Agriculture, Washington, D. C.

A card index arranged systematically (cf. Key to Subject Index . . . (Office of Experiment Stations. Circular No. 23)). Covers period from the origin and first publication of each station (1876) to the present time. Cards are issued every month, or as often as 100 issues can be prepared. Total number to August, 1906: 27,500.

Each entry has descriptive note.

Continued.

9. Bibliographies of Individual Works. Collective. Individual.

1. Collective.

Bibliographical Notes.

A series of papers published in *Journal of Botany*, XXXI (1893) et seqq. A large number of these contributions give bibliographical data (exact dates of publication; detailed collations, etc.) on individual works issued in some peculiar, irregular, or even obscure manner.

I. Ray's herbarium; by James Britten. — XXXI (1893), p. 107—109.

II. Torrey and Gray, *Flora of North America*; by James Britten. — XXXI (1893), p. 298.

III. Hooker and Arnott, *Botany of Beechey's Voyage*, by James Britten. — XXXI (1893), p. 297.

III. *Flora Corciense* [Anon.]; by James Britten. — XXXI (1893), p. 355—357.

cf. Pritzel, ed. 2, p. 482.

Bibliographical Notes.

- IV. Henry Mundy and the Shamrock; by Nathaniel Colgan. — XXXII (1894), p. 109—111.
 With an additional note by W. A. Clarke.
- V. The dating of periodicals; by James Britten. — XXXII (1894), p. 180—181.
- VI. The indexing of periodicals; by James Britten. — XXXII (1894), p. 271—274.
- VII. William Young and his work; by James Britten. — XXXII (1894), p. 332—337.
- VIII. Jane Colden and the Flora of New York; by James Britten. — XXXIII (1895), p. 12—15.
- IX. Curtis's Flora Londinensis; by W. A. Clarke. — XXXIII (1895), p. 112—114.
- X. The dating and indexing of periodicals; by James Britten. — XXXIV (1896), p. 168—170.
- XI. The misuse of the Index Kewensis; by James Britten. — XXXIV (1896), p. 271—273.
- XII. The dates of Rees's Cyclopædia; by B. Daydon Jackson. — XXXIV (1896), p. 307—311.
- XIII. "The rarest typographical product of Linnæus; by Daydon Jackson. — XXXIV (1896), p. 359—362.
 Review of Flatt's article in Botan. Centralbl. LXVI (1896), p. 216—222 on variant pages in Linné's Species Plantarum (1753), with critical notes. — Cf.: W. Junk, Linné's Specimen Plantarum, editio princeps, und ihre Varianten, m. Beschreib. einer neuen, Berlin, 1907, with 12 plates; also: J. M. Hulth, Bibliographia Linnaeana I, 1, Upsala, 1907, p. 89.
- XIV. Swartz's Prodröm Descriptionum Vegetabilium; by A. B. Rendle. — XXXV (1897), p. 20—21.
- XV. Gronovius's Flora Virginica; by James Britten. — XXXVI (1898), p. 264—267.
- XVI. Fabricius' Enumeratio Plantarum Horti Helmstadiensis; by James Britten. — XXXVI (1898), p. 397—399.
- XVII. Steudel's Synopsis Plantarum Glumacearum; by A. B. Rendle. — XXXVII (1899), p. 33—34.
- XVIII. Francis Bauer's Delineations of Exotic Plants; by James Britten. — XXXVII (1899), p. 181—183.
- XIX. Samuel Curtis's Beauties of Flora; by James Britten. — XXXVII (1899), p. 183—184.
- XX. Curtis's Flora Londinensis; by W. A. Clarke. — XXXVII (1899), p. 390—395.
- XXI. Fraser's Catalogues; by James Britten; XXXVII (1899), p. 481—487.
- XXII. Pallas's Flora Rossica; by B. Daydon Jackson; XXXVIII (1900), p. 189.
- XXIII. An overlooked paper by Rafinesque; by James Britten. — XXXVIII (1900), p. 224—229.

Remarks on the Encyclopædia of Plants, of London, Lindley, and Sowerby (in London's Gardener's Mag. VIII (1832), p. 245—248). This paper by Rafinesque is reprinted here.

Bibliographical Notes.

- XXIII [a]. Dupetit-Thouars; by B. B. Woodward. — XXXVIII (1900), p. 392—400.
- XXIV. Two editions of Sitgraves Report, by F. V. Coville and J. N. Rose. — XXXVIII (1900), p. 443—444.
- XXV. Aubert Dupetit-Thouars; by W. P. Hiern. — XXXVIII (1900), p. 492—494.
- XXVI. Francis Bauer's Delineations of Exotick Plants. — XXXIX (1901), p. 107—108.
- XXVII. The dates of Humboldt and Bonpland's Voyage; by C. D. Sherborn and B. B. Woodward. — XXXIX (1901), p. 202—206.
- XXVIII. Periodical publications; by James Britten. — XXXIX (1901), p. 237—243.
- XXIX. John Bellenden Ker's botanical papers; by James Britten. — XL (1902), p. 419—422.
- XXX. L. A. Deschamps and F. Noronha; by James Britten. — XLI (1903), p. 282—285.
- XXXI. A. St. Hilaire's Plantes usuelles des Brasiiliens; by B. B. Woodward. — XLII (1904), p. 86—87.
- XXXII. Giovanni Francesco Buonamici; by James Britten. — XLII (1904), p. 86—87.
- XXXIII. Dates of the Nova Genera, of Humboldt, Bonpland, and Kunth; [by J. H. Barnhart].
Extract from Barnhart's paper, by the same title, in Bull. Torrey Botan. Club, 1902, p. 585—598.
- XXXIV. Redouté's works; by B. B. Woodward. — XLIII (1905), p. 26—30.
- XXXV. L'Héritier's botanical works; by James Britten and B. B. Woodward. — XLIII (1905), p. 266—273; 325—329.
- XXXVI. Solander's Journal; by James Britten. — XLIV (1907), p. 70—71.
- XXXVII. The dates of Hooker's British Jungermannie and Musci Exotici; by A. Gepp. — XLIV (1907), p. 176—8.
- XXXVIII. John Bartram's Travels; by James Britten. — XLIV (1907), p. 213—214.
- XXXIX. The dates of publication of Lamarek's Encyclopédie Méthodique; by C. D. Sherborn and B. B. Woodward. — XLIV (1907), p. 318—320.
Extract from their paper, by the same title, in Ann. Mag. Nat. Hist. June, 1906.
The dates given refer only to the botanical articles in the Encycl. Méth.
- XL. Atlas der Diatomaceen-Kunde. Herausgegeben von A. Schmidt; by B. B. Woodward. — XLIV (1906), p. 384—386.
- XLI. The "Illustrations of Australia Plants"; by James Britten. — XLV (1907), p. 68—70.
- XLII. Plants of the Antilles; by James Britten. — XLV (1907), p. 118—119.
Concerns: Voyages to the Madeira and Leeward Isles . . . , by Maria R***; i. e. Maria Riddell.

Bibliographical Notes.

XLII [a]. Robert Brown's Prodröm; by James Britten. — XLV (1907), p. 246—248.

XLIII. Some works of C. F. P. von Martius; by B. B. Woodward. — XLVI (1908), p. 197—198.

Contains data on 1) Hist. Nat. Palm., 2) Nova gen. et sp. plant., 3) Icones selectae, 4) Amoenit. Botan. Monacenses.

Index:

Arnot, see Hooker.

Bartram, John, his Travels: XXXVIII.

Bauer, Francis, his Delineations of Exot. Plants: XVIII, XXVI.

Bonpland; see Humboldt.

Brown, Robert, Prodröm: XLII.

Buonamici, Giovanni Francesco: XXXII.

Colden, Jane, and the Flora of New York: VII.

Curtis's Flora Londinensis: IX, XX.

Curtis, Samuel, his Beauties of Flora: XIX.

Deschamps, L. A.: XXX.

Dupetit-Thouars, his writings: XXIII, XXV.

Encyclopédie Methodique (Lamarck): XXXIX.

Fabricius' Enum. Plant. Horti Helmstad.: XVI.

Flora Corciense [Anon.]: III.

Flora Londinensis (Curtis): IX, XX.

Fraser, John, his Catalogues of plants: XXI.

Gronovius's Flora Virginica: XV.

Hooker's British Jungermanniæ and Musci Exotici: XXXVII.

Hooker and Arnot, Bot. Beechey's Voy.: II.

Humboldt and Bonpland, Voyage: XXVII.

Humboldt, Bonpland and Kunth, Nova genera: XXXIII.

Illustrations of Australian Plants.

Index Kewensis: XI.

Ker, John B., his writings: XXIX.

Kunth, see Humboldt.

Lamarck's Encyclopédie Methodique: XXXIX.

L'Héritier's botanical works: XXXV.

Linnaeus, Species Plantarum (1753): XIV.

London, Lindley and Sowerby, their Encyclop. of plants (remarks by Rafinesque): XXIII.

Martius, Hist. nat. palm.; Nova gen.; Icon sel.; Amoen. bot.: XLIII.

Mundy, Henry, and the Shamrock: IV.

New York, Flora of (Jane Colden): VIII.

Noronha, F.: XXX.

Pallas's Flora Rossica: XXII.

Periodicals, dating of: V, X, XXVIII.

Periodicals, indexing of: VI, X, XXVIII.

Rafinesque, an overlooked paper by: XXIII.

Ray's herbarium: I.

Redouté's works: XXXIV.

Rees's Encyclopædia: XII.

R[iddell], Maria, Voyages to the Madeira and Leeward Caribbean Isles: XLII.

Saint-Hilaire, A., Plantes usuelles des Brasil.: XXXI.

Schmidt, A., Atlas der Diatomaceen-Kunde: XL.

Bibliographical Notes.

Schwartz's *Prodromus Descript. Vegetabil.*: XIV.

Shamrock (Henry Mundy's writings on): IV.

Sitgrave's Report: XXIV.

Solander's Journal: XXXVI.

Steudel's *Synops. Plant. Glumac.*: XVII.

Torrey and Gray, *Flora No. Amer.*: II.

Young, William, and his work: VII.

British Museum (Natural History), London.

Catalogue of the books, manuscripts . . .

[full title, see under Section 3a.]

This excellent catalogue furnishes full bibliographical data for a large number of botanical works, giving descriptive notes, dates of publication, etc.

Jackson, Benjamin Daydon.

Bibliographical notes.

(Bull. Herb. Boissier I (1893), p. 297—299.)

Concerning dates of publication of Wendland, *Coll. plant. tam exot. quam indig.*; W. Hooker, *Flora bor.-am.*; J. D. Hooker, *Flora Novæ Zeland. and Fl. Tasmanie.*

Junk, W.

Die Anfänge der botanischen Zeitschriften-Litteratur.

(In his *Rara historico-naturalia et mathematica*, pars IX (= p. 41—44).)

Gives detailed collations and descriptive notes for a number of important botanical periodicals.

2. Individual.*Bock, Hieronymus.**Grimus, C., Ritter von Grimbürg.*

Studie über das Kräuterbuch des Hieronymus Bock.

(Bozen. Realschule. 23. Bericht, 1877.)

*Elliott, Stephen.**Barnhart, J. H.*

Dates of Elliott's Sketch [of the botany of South Carolina and Georgia].

(In Bull. Torr. Bot. Club XXVIII (1901), p. 680—688.)

*Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien.**Bay, J. Christian.*

Analyticals for articles in Engler-Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*.

Each title on a separate card, with full data, including exact dates of publication as furnished by the publisher. — Published by the Library of Congress, Washington, D. C.

Until July, 1906, the issue, including main and analytical entries, together with enough second copies to cover all secondary entries (subjects, added author entries, etc.), covers 465 cards.

*Georgica.**Camerarius, Joachim.*

Catalogus autorum, quorum scripta tam extant, quam desiderantur, qui aliquid in Georgicis et similibus scripserunt.

(In his Opuscula quaedam de re rustica. Noribergae 1577, 4to., fol. 42, verso — 53.)

*Hildegardis de Pinguia.**Kaiser, Paul.*

Die naturwissenschaftlichen Schriften der Hildegard von Bingen. (Wissenschaftliche Beilage zum Jahresberichte des Königstädtischen Gymnasiums zu Berlin, Ostern 1901. Berlin, R. Gärtner, 1901.)

Cf. Meyer, Gesch. d. Bot. III (1856), p. 517—536; Jessen, E., Botanik d. Gegenwart u. Vorzeit, 1865, p. 123 et seq.

*Hooker, J. D.**Jackson, Benjamin Daydon.*

[On] Hooker's Flora Novæ-Zelandiæ.

[On] Hooker's Flora Tasmaniae.

(In Bull. Herb. Boissier I (1893), p. 29—32.)

*Hooker, W.**Jackson, Benjamin Daydon.*

[On] Hooker's Flora boreali-americana.

(In Bull. Herb. Boissier I (1893), p. 29.)

*Humboldt-Bonpland-Kunth.**Barnhart, John Hendley.*

Dates of the "Nova Genera" of Humboldt, Bonpland and Kunth.

(In Bull. Torrey Bot. Club XXIX (1902), p. 585—598.)

*Linné, Carl von.**Hulth, J. M.*

Bibliographia Linnaeana. Matériaux pour servir à une bibliographie linnéenne. Partie I. Livraison I. Upsala, 1907.

170 p. 9 pl. (facsim.).

Contains a bibliography of works by Linné to and incl. 1906.

Junk, W.

Carl v. Linné und seine Bedeutung für die Bibliographie. Fest-Schrift. Berlin, 1907.

19 p., front. (portrait), 1 pl. (portrait). 4to.

Linné's Species plantarum editio princeps, und ihre Varianten, mit Beschreibung einer neuen. Ein Jubilaeums-Epilog. Berlin, 1907.

1 l., 12 p., 12 pl. (facsim.). 8°.

Contains references to earlier literature on the same work.

*Pursh [Pursch], F. T.**Barnhart, J. H.*

The date of Pursh's Flora [Amer. Septentr.].

(In Torrey IV (1904), p. 132—136.)

*Rafinesque-Schmaltz, C. S.**Barnhart, J. H.*

The dates of Rafinesque's New Flora and Flora Telluriana.

(In Torrey, vol. 7 (1907), p. 177—182.)

cf. R. Ellsworth Call, The life and writings of Rafinesque . . . Louisville, Ky., 1895. (Filson Club Publications, no. 10.)

*Svensk Botanik.**Berzelius, J. J.*

Jac. Berzelius själfbiografiska anteckningar. Utgifna of Kongl. Svenska Vetenskapsakademien genom H. G. Söderbaum. Stockholm, P. A. Norstedt & söner, [1901].

XII, 246, [1] p., front. (port.), plates, facsim. 8°.

Svensk botanik: p. 157—161. — A history of the work Svensk botanik (1801—1838); conf. Wikström, Conspectus (1831), p. 254—259; Pritzel, Thesaur., ed. 2 (1872), p. 361.

*Theophrastos Eresios.**Fedde, F.*

Einiges aus den Uranfängen der Pflanzengeographie.

(In Verhandl. des botan. Vereins der Prov. Brandenb. 45. Jahrg. 1903. (Berlin, 1904), p. 97—109.)

Treats mainly of Theophrastos.

*Wendland, Johann Christoph.**Jackson, Benjamin Daydon.*

[On] Wendland, Collectio plantarum tam exoticarum quam indigenarum.

(In Bull. Herb. Boissier I (1893), p. 29.)

10. Libraries of Institutions. Lists of Publications at Institutions.**Belgium. Academie royale des sciences.***Morren, Ed.*

Mémoire des travaux de botanique et de physiologie végétale qui ont été publiés par l'Académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique pendant le premier siècle de son existence (1772—1871). Rapport séculaire. Bruxelles, F. Hayez, Imprimeur . . . 1872.

2 l., II, 96 p. 8°.

“Extrait du Livre commémoratif du centième anniversaire de l'Académie (1772—1872).

A historical discourse on a systematic plan, followed by a list of papers, numbering 393, alphabetical by authors.

Berlin. Universität. Botanisches Institut.*Westermaier, M.*

Die wissenschaftlichen Arbeiten des Botanischen Instituts der K. Universität zu Berlin in den ersten 10 Jahren seines Bestehens. Berlin, J. Springer, 1888.

65 p. 8°.

History of progress, bibliography, resumé of first ten years of the activity in Schwendener's institute (established 1878.)

Java. Buitenzorg. 's Lands Plantentuin.*Buitenzorg. 's Lands Plantentuin.*

Catalogus der Bibliotheek van 's Lands Plantentuin te Buitenzorg. Batavia, Landsdrukkerij, 1887.

XI, 194 p. 8°.

Catalogue de la Bibliothèque du Jardin botanique de Buitenzorg. Deuxième édition. Batavia, Imprimerie de l'État, 1894.

370 p. 8°.

Kew, England. — Royal Gardens.

Catalogue of the library of the Royal Botanic Gardens, Kew. London, printed for her Majesty's stationery office by Darling & Co., Ltd., 1899.

VIII p., 790 l. 8°.

Printed on one side of the leaves.

(Royal Gardens, Kew. Bulletin of miscellaneous information. Additional series. III. — This issue distributed only by the office of the Gardens.)

Cf. Journ. of. Bot. XXXVII (1899), p. 329—332.

Additions.

Lists of additions are printed from year to year in the Bulletin of miscellaneous information.

Leopoldinisch-Carolinische Deutsche Akademie der Naturforscher.

Katalog der Bibliothek der . . . bearbeitet von Oscar Grulich. Bd. I—II, Dresden, 1891—1898.

Botanik: II, p. 421—629.

Manchester, England. Free Library.

Botanical books in the Manchester Free Library, comp. by W. E. A. Axon. Oldham, James Nield, 1879.

22 p. 8°.

Nederlandsche Botanische Vereeniging, Leiden.

Catalogus der bibliotheek van de Nederlandsche Botanische Vereeniging. Nijmegen, H. C. A. Thieme, 1883.

Cover-title, 2 p., l., 55 p. 8°.

Paris. Jardin des plantes.**Denise, Louis, i. e., Siméon Louis.**

. . . Bibliographie historique & iconographique du Jardin des plantes, Jardin royal des plantes médicinales, et Muséum d'histoire naturelle . . . Paris, H. Daragon, 1903.

2 p., l., 268 p. 8°.

Regensburg. Kgl. Botanische Gesellschaft.

Katalog der Bibliothek der kgl. botanischen Gesellschaft in Regensburg. I. Teil: Nichtperiodische Schriften. Zusammengestellt von Dr. Franz Vollmann . . . Regensburg, Druck der F. Huberschen Buchdruckerei, 1895.

VIII, 142 p., 1 l. 8° maj.

Katalog . . . II. Teil: a) Nachtrag zu den nichtperiodischen Schriften.

b) Periodische, bezw. Gesellschaftsschriften . . . 1897.

IV, 40 p., 1 l. 8° maj.

St. Louis, Mo. — Missouri Botanical Garden.

A list of books and papers published from the Missouri Botanical Garden or by its employees, or based chiefly on work done by aid of the facilities of the Garden, from September, 1889, to December, 1896, inclusive. By William Trelease.

(Eighth ann. report, Missouri Bot. Gard. (1897), p. 221—228.

A list . . . from January, 1897, to December, 1898, inclusive. By C. E. Hutchings.

(Tenth ann. report, Missouri Bot. Gard. (1899), p. 85—90.)

A list . . . from January, 1899, to December, 1903, inclusive.

(Fifteenth an report (1904), p. 87—97.)

St. Petersburg. Izvîestiia Imperatorskago lîsnogo instituta.*Borodin, J. P.*

Botanicheskiĭ kabinet Imperatorskago lîsnogo instituta v nachal' vtorogo stol'tiia ego sushchestvovaniâ. Otchet za 35 liet. [Botanical cabinet of the Imperial Institute of Forestry at the beginning of the second century of its existence. Report for 35 years.] St. Petersburg. 1905.

VI, 160 p., front. (portrait). 8°.

(Izviestiia Imperatorskago lîsnogo instituta. Vypusk XII-ĭ. [Bulletin of the Imperial Institute of Forestry. No. 12.]

Important lists of exsiccata, books, etc.

Wien. Universität. Pflanzenphysiologisches Institut.*Linsbauer, Karl.*

Wiesner und seine Schule. Ein Beitrag zur Geschichte der Botanik. Festschrift anlässlich des dreissigjährigen Bestandes des Pflanzenphysiologischen Institutes der Wiener Universität. Von Dr. Karl Linsbauer . . . , Dr. Ludwig Linsbauer . . . Leopold R. v. Portheim Mit einem Vorworte von Prof. Dr. Hans Molisch. Wien, A. Hölde, 1903.

xviii, 259, [1] p. front. (port.) 8°.

"Arbeiten aus Wiesners Schule," p. [129]—141.

11. Auction and Sales Catalogues of Private Botanical Libraries.

Arranged by names of original owners.

These are for a larger part booksellers' and auctioneers' catalogues. The latter will be found in section 12, and here only a short reference is made to them.

[Allescher, A.]

Cat. O. Weigel. 1904.

[Berkeley, M. J.]

Cat. Wheldon. 1890.

[Bischoff, G. W.]

Botanische Bücher-Sammlung aus dem Nachlass des . . . G. W. Bischoff. Berlin, Druck von Bahn & Co., 1856.

51 p.

Auction catalogue. Compiled by R. Friedländer u. Sohn.

[Blume, Carl Ludwig.]

Verzeichniss der hinterlassenen Bibliothek des Carl Ludwig Blume.

Leipzig, T. O. Weigel, 1863.

VI, 81 p. 8°.

Auction catalogue.

[Breyne, Johann Philipp.]

Bibliothecae Breynianae pars prior; sive catalogus librorum . . . botanicorum & historiae naturalis scriptorum . . . quam . . . comparavit Johan. Philipp. Breynius. Gedani, typ. Bartels, 1765.

176 p. 8°.

Auction catalogue. Continued (fide Petzh.) by a second part, paged 177—396.

Buc'hoz, Pierre Joseph.

Catalogue des livres de la bibliothèque de M. Buchoz. Paris, 1778.
212 p. 8°.

[Caspary, R.]

Cat. Raabe. 1888.

[Cramer, C.]

Cat. Weg. 1904.

[Decaisne, Joseph.]

Catalogue de la bibliothèque de J. Decaisne, classé par J. Vesque. Paris,
1885.
485 p. 8°.

[Flatt, C. von.]

Bibliotheca botanica. Verzeichniss der botanischen Bibliothek Flatts. Szekesf.
1891.

[— —.]

Cat. Weg. 1908.

[Flotow, H. J. von.]

Cat. Friedländer. 1857.

[Frank, A. B.]

Cat. Aug. Schultze. 1901.

[Fresenius, G.]

Cat. Völker. 1867.

*[Gaertner, Joseph.]**[Gärtner, Karl Friedrich, 1772—1850.]*

Verzeichniss einer naturwissenschaftlichen Bibliothek. Tübingen, Druck
v. Laupp, 1862.
1 l., 94 p.
Auction catalogue.

[Garovaglio, Santo.]

Catalogo generale delle opere (esclusivamente botaniche, soprattutto italiane)
componenti la biblioteca del dottor S. Garovaglio. Milano, 1882. 8°.
Biblioteca Garovaglio: Catalogo di libri estranei alla botanica. Pavia,
1881. 8°.
Auction catalogues.

[Glaziou, F. M.]

Cat. Quaritch, 1908.

[Graham, Robert.]

Catalogue of the botanical library of Professor Robert Graham. Edin-
burgh, 1846.
Auction catalogue.

[Harz, C. O.]

Cat. Schönhuth. 1907.

[Hegelmaier, Friedrich.]

Cat. Koehler. 1907.

[Holler, A.]

Cat. Lüneburg. 1906.

[Holm (nob. Holmskiöld), Theodor.]

Catalogus bibliothecae Theodori Holmskiöld, quæ publica auctionis lege a.
1794 dividendetur. Havniæ, [1794].
406 p. 8°.
Compiled by Friedrich Ekkard.

[Jordan, Alexis.]

Cat. Klincksieck. 1903.

[*Jussieu.*]

Catalogue de la bibliothèque scientifique de MM. de Jussieu dont la vente aura lieu le . . . 11 janvier 1858 . . . Paris, Henri Labitte, libraire, 1857.
XV, 464 p. 8°.

Preface signed: J. Decaisne.

[*Kjellman, F. R.*]

Cat. Weg. 1908.

[*Knuth, P.*]

Cat. Weg. 1900.

[*Koch, W. D. J.*]

See *Kunth, C. S.*

[*Kreysig, Friedrich Ludwig.*]

Verzeichniss der von Friedrich Ludwig Kreysig hinterlassenen, in der Botanik . . . ausgezeichneten Bibliothek. Leipzig, Druck v. Nagel, 1840.
VI, 140 p. 8°.

Auction catalogue.

[*Kunth, C. S.*]

Catalogus bibliothecarum botanicarum C. S. Kunth et W. D. J. Koch. Berolini, typ. Trowitzschii et fil., 1851.

1 l., 88 p., 2 l.

Auction catalogue. Titles not given in Pritzel's Thesaurus are designated by asterisk.

[*Kuntze, O.*]

Cat. Weg. 1908.

[*Leimbach, G.*]

Cat. Weg. 1904.

[*Lemaire, A.*]

Cat. O. Weigel. 1904.

[*Liebmann, F. M.*]

Catalogus librorum, quos reliquit F. M. Liebmann. Hauniae, typis Loeserianis, 1857.

2 l., 51 p. 8°.

Auction catalogue.

[*Link, Heinrich Friedrich.*]

Verzeichniss der von Heinrich Friedrich Link hinterlassenen Bibliothek. Leipzig, T. O. Weigel, 1851.

VI, 101 p.

Auction catalogue. Conf. Botan. Zeitung 1851, col. 720; conf. *ibid.*, 1852, col. 271—272 for prices of some important botanical works.

[*Marsson, Th.*]

Cat. Koehler. 1892.

[*Masters, Maxwell Tylden.*]

Cat. Quaritch, 1908.

[*Maximowicz, C. J.*]

Cat. Koehler. 1893.

[*Mettenius, G.*]

Cat. List & Francke. 1867.

[*Meyer, Ernst Heinrich Friedrich.*]

Verzeichniss der hinterlassenen Bibliotheken des K. A. Varnhagen von Ense sowie des Ernst Heinr. Friedrich Meyer . . . Leipzig, T. O. Weigel, 1859.

1 l., II, 326 p.

Auction catalogue. Conf. Botan. Zeitung 1859, p: 303.

[*Meyer, G. F. W.*]

Cat. Friedländer. 1856.

[*Moretti, G.*]

Cat. Friedländer. 1857.

[*Morren, Carl*, and *Morren, Eduard.*]

Cat. Brockhaus. 1889.

[*Müller, N. J. C.*]

Cat. Weg. 1902.

[*Oken, Lorenz.*]

Catalog der Bibliothek von Laurentius Oken. Zürich, gedr. by Ulrich, 1852.
1 l., VIII, 204 p. 8°.

Ed. by Orell, Füssli & Co. in accordance with plan projected by
Oken himself. An excellent catalogue of an unusually rich collection.

[*Örsted, Anders Sandöe.*]

Bibliotheca Örstediana. Fortegnelse over . . . Dr. phil., Professor A. S.
Örsted's Bogsamling. Köbenhavn, 1872.

120 p. 8°.

Auction-catalogue. 3131 Nrs.

[*Pedersen, Rasmus.*]

Cat. H. Lyng. 1906.

[*Pfitzer, E.*]

Cat. Weg. 1908.

[*Prantl, K.*]

Cat. R. Jordan. 1893.

[*Progel, A.*]

Cat. Lüneburg. 1906.

[*Reinwardt, Kaspar Georg Karl.*]

Catalogue des livres relatifs aux . . . botanique . . . , qui composaient la
bibliothèque de C. G. C. Reinwardt. Leyde, Brill, 1855.

4 l., 184 p. 8°.

Introduction by J. Geel.

[*Schimper, A. F. W.*]

Cat. Weg. 1902.

[*Sirodot, S.*]

Cat. O. Weigel. 1905.

[*Sprengel, Curt.*]

Verzeichniss der von dem allhier verstorbenen Hr. Prof. Dr. Curt Sprengel
. . . nachgelassenen ausgezeichneten Bibliothek aus allen Fächern der
Wissenschaften, ganz bes. aber aus der Botanik, Medicin und Naturwissen-
schaft . . . , welche am 8. Juli d. J. Nachm. von 2—6 Uhr und folgenden
Tagen in dem auf dem großen Berlin sub N. 334 belegenen Auctionslocale
gegen gleich baare Bezahlung öffentlich versteigert werden soll. Halle, 1834.
XVIII, 144 p. 8°.

cf. Kraus, G., Der bot. Garten d. Univ. Halle. Leipzig 1894, p. 71.

[*Steetz, Joachim.*]

Verzeichniss einiger Büchersammlungen, wovon . . . die dritte Sammlung
werthvolle botanische Werke aus der hinterlassenen Bibliothek des
Steetz enthält. Hamburg, Druck von Meyer, 1863.

1 l., 118 p. 8° min.

Auction catalogue.

[*Stizenberger, E.*]

Cat. Junk. 1907.

[*Sturm, Johann Heinrich Christian Friedrich.*]

Verzeichniss der hinterlassenen . . . naturhistorischen Bibliothek . . . des
Johann Heinrich Christian Friedrich Sturm. Nürnberg, Druck d.
Sebald'schen Officin, 1863.

2 l., 58 p. 8°.

Auction catalogue.

[*Suringar, W. F. R.*]

Cat. Weg. 1902.

[*Swan, Charles W.*]

Catalogue of the botanical library of Dr. Charles W. Swan . . . Boston,
Mass., 1904.

96 p. 1384 lots.

C. F. Libbie & Co., auctioneers.

[*Ventenat, Étienne Pierre.*]

Catalogue des livres de la bibliothèque de feu E. P. Ventenat. Paris,
Tilliard, 1808.

XII, 83 p. 8°.

Auction catalogue.

[*Vrolik, Gerard.*]

Catalogue de la bibliothèque d'histoire naturelle, de médecine et d'autres
sciences, de feu G. Vrolik. Amsterdam, Muller, 1860.

VIII, XVI, 154 p. 8°.

Ed. by Fred. Muller. — A fine collection.

[*Wallroth, F. W.*]

Cat. Friedländer. 1859.

[*Walpers, G. W.*]

G. W. Walpers' botanische Bibliothek. Berlin, Druck von Trowitsch u.
Sohn, 1854.

63 p., 2 l.

Auction-catalogue. Compiled by R. Friedländer u. Sohn.

[*Ward, H. Marshall.*]

Cat. W. Heffer & Sons. 1907.

[*Zickendrath, Ernst.*]

Cat. O. Weigel. 1905.

[*Zwackh, W. von.*]

Cat. Weg. 1904.

12. Booksellers' Catalogues and Auction Catalogues (Trade Lists).

Björck & Börjesson. Stockholm.

1907. Nr. 60.

Botanik. Carl von Linné: in memoriam.

front. (port.), 64, [2] p. 2126 nrs.

Rich in Linnaeana.

Brockhaus, F. A. Leipzig.

1889.

Botanische Bibliothek von Carl und Eduard Morren in Lüttich. 184 p.;
4816 nrs.

Dames, Felix L. Berlin.

1900. No. 52.

Bibliotheca botanica. I. Phanerogamae. Florae.
38, [1] p. 1267 nrs.

1900. No. 53.

Bibliotheca Botanica. II. Cryptogamae.
26 p. 907 nrs.

1902. No. 70.

Bibliotheca Botanica. Neue Erwerbungen.
19 p. 678 nrs.

[1906.] No. 88.

Bibliotheca Botanica.
58, [1] p. 2064 nrs.

[1908.] No. 98.

Bibliotheca botanica.
50, [1] p. 1772 nos.*Dulau and Co. London.*

1897. No. XVI.

Cryptogamic botany.

115 p.

Classified.

1899. No. XVII.

Phanerogamia; alphabetically arranged in orders.

214 p.

A very useful list.

Friedländer, R., und Sohn. Berlin.

1856.

Botanische Bibliothek des G. F. W. Meyer.

20 p.

1857. Nr. 71.

Botanische Bibliothek aus dem Nachlasse des H. J. v. Flotow und G. Moretti.

22 p.

Botanische Bücher-Sammlung aus dem Nachlasse des F. W. Wallroth.

Berlin, 1859.

1 l., 38 p.

Also with title in French.

Bücher-Verzeichniss.

Divided into sections. Section XIV—XVIII: Botanik; section XIX includes Palaeobotany.

Each section is composed of several separate catalogues, each containing a definite subject (see below), which bear 1) sectional and sub-sectional numbers, 2) current numbers. The sectional and sub-sectional numbers are constant in their significance (e. g. XVII, 2 = Cryptogamae I. Scripta miscellanea; cryptogamae vasculares; Musci), the current numbers indicate a chronological order necessitated by the issue of new editions of sections or sub-sections. These issues are not dated.

Contents of sections XIV—XVIII:

- XIV. 1. Botanica historica: Historica botanices. Vitae botanicorum. Bibliographia. Scriptores botanici ante Linnaeum. Linnaeus. Nomina plantarum.

Friedländer, R., und Sohn. Berlin.

2. Scripta miscellanea: Annales et acta. Systemata plantarum. Plantae novae. Icones plantarum. Plantae fossiles.
 3. Plantae oeconomicae.
 - XV. 1. Anatomia, physiologia et embryologia plantarum.
 2. Pathologia et teratologia plantarum. Cecidia.
 - XVI. Phanerogamae.
 - XVII. 1. Cryptogamae. I: Scripta miscellanea. Florae plantarum cryptogamarum. Cryptogamae vasculares. Musci frondosi et Hepaticae.
 2. Cryptogamae. II: Fungi.
 3. Cryptogamae. III: Lichenes. Algae, Characeae, Desmidiaceae et Diatomeae.
 - XVIII. 1. Geographia plantarum. Florae: I. Florae Europaeae.
 2. Florae. II: Florae exoticae.
[recte: Florae extraeuropaeae!]
 - XIX. [Inter alia]: Plantae fossiles.
- Of botanical interest are furthermore the following:
- I. 1. Acta societatum academicarum.
 2. Itinera historico-naturalia.

Heerdegen, Friedrich.

No. 228. 1858.

Bibliotheca medico-physica. Verzeichniss einer systematisch geordneten Sammlung verschiedener (noch unbenützter) Manuscripte und älterer, grossentheils seltener Bücher aus dem Gesamtgebiete der Natur- und Heilkunde; . . . dann von alten, mit Abbildungen gezierten . . . Kräuterbüchern, Floren einzelner Länder . . . 1858.
104 p.

Valuable for old and scarce literature, old illustrations, and curiosa.

Heffer, W., & Sons. Cambridge, England.

No. 28. 1907.

A catalogue of second-hand books (including the botanical library of H. Marshall Ward).

94 p. 2766 nos.

Hermann, A. Paris.

1904. No. 81.

Bibliothèque botanique. 1re. Partie.

56 p. 2109 nrs.

1908. No. 94.

Ouvrages de botanique comprenant les bibliothèques Timbal-Lagrave, Geneviev, etc.

64 p. 2207 nrs.

Jordan, Richard [now Dr. H. Lüneburg]. München.

1893. Nos. 3—5.

Botanik. Die Bibliothek des † Herrn Professor Dr. Karl Prantl.

Abth. I (Cat. 3): Annales et Acta. Scripta miscellanea. Phanerogamae.

„ II („ 4): Florae. Geographia plantarum.

„ III („ 5): Cryptogamae. Anatomia et physiologia plantarum.

Junk, W. Berlin.

- [] Nr. 10.
Auctores botanici ante annum 1800. [Pars I.]
36 p. 889 nrs.
- [] Nr. 13.
Auctores botanici ante annum 1800. Pars II.
22 p. 890—1400 nrs.
Supplementum, p. 16—23: Opera botanica rara et selecta.
- [] Nr. 16.
Auctores botanici ante annum 1800. Pars III.
16 p. 1409—1749 nrs.
- [] Nr. 17.
Cryptogamae. (Botanik I.)
50 p. 1318 nrs.
- [] Nr. 19.
Anatomia, physiologia, pathologia plantarum. (Botanik III.)
[1905.] Nr. 29.
Botanik.
... "enthält eine Auswahl von grösseren Werken" ...
132 p.; 3646 nrs.
- [] Not numbered.
Catalogue of an old botanical library including only books of the XV—XVIII century. — Catalog einer alten ...
16 p.
- Botanik. Lichenolog. Bibliothek Dr. E. Stizenberger's und 3 anderer Botaniker. Auktion November 22 & 23., 1907.
38 p. 948 nrs.
- Bibliotheca botanica. Berlin, 1909.
XVIII, 288 p. 8°.
6891 numbers.
Two simultaneous editions, one in ordinary style, the other on writing paper and bound in cloth. — A catalogue of permanent value, edited with care and judiciously annotated. The introduction (p. II—XV) furnishes the epitome of a history of prices, fluctuation in values, etc., indicative of rare judgement and experience.

Kirchhoff & Wigard. Leipzig.

1862. No. 72.
Systematische Naturwissenschaften (Zoologie, Botanik . . .).
1 l., 84 p. 8°.
Includes H. G. Bronn's palaeontological library.
1863. No. 78.
Beschreibende Naturwissenschaften (Zoologie, Botanik . . .).
1 l., 58 p. 8°.
Includes portion of K. C. von Leonhard's library.
1864. No. 104.
Beschreibende Naturwissenschaften (Zoologie, Botanik . . .).
1 l., 66 p. 8°.

Klemming, H. Stockholm.

1900. No. 138 (1900, no. 3).
Botanik.
48 p. 1439 nrs.

Klincksieck, Paul. Paris.

1903. Catalogue de la bibliothèque botanique de feu Alexis Jordan (Lyon 1814—1897) dont la vente aux enchères public aura lieu à Paris les 4, 5, 6, 7, 8 et 9 mai 1903 . . . Paris, [1903].

144 p. 8°.

1098 lots. A good collection, well catalogued.

Koehler, K. F., Antiquarium. Leipzig.

1885. No. 428.

Botanik.

54 p. 1476 nrs.

1887. No. 448.

Botanik. I: Florae. Anatomia et physiologia plantarum. Phanerogamae, etc. . . .

70 p. 1901 nrs.

1887. No. 449.

Botanik. II: Cryptogamae.

26 p. 751 nrs.

1888. No. 463.

Botanik. Supplement zu den Katalogen 448 und 449.

17 p. 444 nrs.

1888. Nr. 470.

Botanik.

70 p. 2380 nrs.

Classified.

1891. Nr. 502.

Botanik.

54 p.

1892. Nr. 514.

Botanik. Hierin u. A. die Bibliothek des † Herrn Dr. Theod. Marsson in Greifswald.

66 p. 1790 nrs.

1893. Nr. 519.

Botanik. Hierin die Bibliothek des † Herrn Dr. C. J. Maximowicz in St. Petersburg.

76 p. 1947 nrs.

1907. Nr. 568.

Botanik. Enthält u. a. die Bibliothek des verstorbenen Herrn Professor Friedrich Hegelmaier (Tübingen).

162 p. 4499 p.

List & Francke. Leipzig.

Verzeichniss der von Herrn Professor Dr. G. Mettenius . . . hinterlassenen botanischen Bibliothek.

Sold by auction June 13., 1867.

1901. Nr. 330.

Botanik.

69 p. 2160 nrs.

Lüneburg, Dr. H. (E. Reinhardt). München.

[1906.] Nr. 58.

Botanik. Abt. I. Cryptogamae. Enthaltend u. a. die Bibliothek des † Herrn . . . Dr. Aug. Holler (Memmingen).

50 p. 1515 nrs.

Lüneburg, Dr. H. (E. Reinhardt). München.

[1906.] Nr. 59.

Botanik. Abt. II. Phanerogamae. Systemata plantarum. Historia botanices. Periodica. Annales et Acta. Enthaltend u. A. die Bibliotheken des † Rubusforschers Dr. A. Progel und des . . . Dr. Aug. Holler.
51—92 p. 1521—2680 nrs.

Lüneburg, Dr. H. (Franz Gais). München.

1908. Nr. 84.

Zur Geschichte der Naturwissenschaften und der Technik. 1050 Werke aus den Jahren 1485—1799. Mit Umschlagbild, 1 Tafel und 2 Abbildungen im Text.

1 l., 126 p. 8°.

Botanik: p. 11—31.

Lyngé, H. J., & Søn. Kjöbenhavn.

1906. Nr. 20.

Naturvidenskab: Zoologi, Botanik. Geologi. Indeholdende Dele of afd. Prof. . . . Rasm. Pedersen . . . og andres Bogsamlinger.

68 p. 8°.

Botanik: p. 43—60: nrs. 1359—1912.

Maske, L. F. Breslau.

Nr. XLI. [1858.]

Naturgeschichte der drei Reiche in systematischer Anordnung. Breslau, Druck von Storch & Co.

2 l., IV, 66 p.

*Meuleneere, Louis de. Brussels.*1905. No. 99, 2^e partie.

Repertoire générale des ouvrages et périodiques sur les sciences botaniques.
58 p. 4005 nrs.

Muller, Frederik, & Cie. Amsterdam.

[1890?]

Botanique. Cryptogamae, Algae, Filices, Musci, Lichenes, etc.

36 p. 576 nrs.

Müller. Gotha.

Catalog über die Bibliothek des zu Eisenach verstorbenen Oberforstraths König und Professor der Botanik Rath Dieterich. Gotha, 1850.

3415 nos.

Quaritch, Bernard. London.

Catalogue of works on natural history, physics, mathematics, and other sciences. London, November 1881.

IV, 471 p. 8°.

Rough Lists.

No. 121.

Feb. 15., 1892.

Natural history. Part II. Botany . . .

II, 38 p. 553 nrs.

No. 139.

Jan. 31., 1894.

Botany: p. 16.

No. 141.

May, 1894.

Botany: p. 16—22.

No. 145.

October, 1894.

Botany: p. 17—19.

No. 150.

May, 1895.

Botany: p. 7—9.

Quaritch, Bernard. London.

- No. 151. June, 1895.
Botany: p. 53—54.
- No. 162. August, 1896.
Botany: p. 20—29.
- No. 165. December, 1896.
Botany: p. 4—10.
- No. 170. June, 1897.
Botany: p. 1—16.
- No. 179. April, 1898.
Botany: p. 1—26.
- No. 187. March, 1899.
Botany: p. 24—34.
- No. 191. August, 1899.
Botany: p. 8—12.
- No. 198. April, 1900.
Natural history: p. 447—517.
- No. 206. June, 1901.
Botany: p. 8—12.
- No. 233. August, 1904.
Botany: p. 47—54.
- No. 241. June, 1905.
Pure and applied botany.
72 p. 928 nrs.
- No. 248. April, 1906.
Botany (continued).
p. 73—85.
- No. 249. May, 1906.
Botany: p. 15—18.
- No. 256. February, 1907.
Botany: p. 32—34.
Herbals: p. 38—40.
- No. 263. April, 1908.
... Natural history; consisting mainly of recent purchases of
the more important libraries formed by the late Maxwell
Tylden Masters ... [and] A. F. M. Glaziou.
Botany: p. 1—29. 333 nrs.

Raabe's Nachfolger, Ferd. (Eug. Heinrich). Königsberg.

1888. Nr. 82.
Botanik. Die Bibliothek des † Herrn Professor Dr. Robert Caspary. 121 p.
4010 nrs.

Rosenthal, Ludwig. München.

- [1908.] Nr. 122.
Alte Medicin (bis 1799).
178 p. 3010 nrs.
Kräuter-Bücher: p. 73—84 (nrs. 1256—1382).

Schönhuth, Ottmar. München.

- [1907.] Nr. 6.
Botanik ... Grösstenteils aus der Bibliothek des verstorbenen Herrn
Professor Dr. C. O. Harz, München.
51 p. 1574 nrs.

Schultze, August (P. Nitschmann). Berlin.

1901. Nr. 20.

Bibliotheca botanica. Anatomia, physiologia, embryologia, pathologia plantarum. Symbiosis. Parasita plantarum. Cryptogamae. Enthaltend die Bibliothek des † . . . Prof. Dr. A. B. Frank . . .

61 p. 2033 nrs.

Stechert, G. E. New York.

1907. New series XVII.

Natural history and science.

120 p.

Rich in botanical items; classified.

Streisand, Hugo. Berlin.

[1908.] No. 22.

Serien naturwissenschaftlicher Zeitschriften, Encyclopädien, etc.

40, [3] p. 678 nrs.

Völker, K. Th. Frankfurt a. M.

1867. Catal. 25.

Die nachgelassene Bibliothek des . . . Herrn Professor Dr. G. Fresenius . . .

Weg, Max. Leipzig.

1900. Nr. 73.

Botanik aus den Bibliotheken des † Herrn Dr. Paul Knuth in Kiel, des † Herrn J. B. Keller in Wien und eines bedeutenden Kryptogamenforschers.

106, [1] p. 3636 nrs.

1902. Nr. 82.

Botanik, hauptsächlich aus den Bibliotheken des † Herrn Professors Dr. A. F. W. Schimper in Basel und des † . . . Dr. Fred. Arnold in München. Hierin auch die pflanzenphysiologische Bibliothek des † Herrn Prof. Dr. N. J. C. Müller . . . , die bryologische Büchersammlung des Herrn Dr. v. Klinggraeff und ein Theil der algologischen Bibliothek des † Herrn Professors Dr. W. F. R. Suringar in Leiden.

154 p. 5365 nrs.

1904. Nr. 89.

Bibliotheca botanica I. Botanik. Abteilung I. Hierin die Bibliotheken der verstorbenen Herren Prof. Dr. C. Cramer-Zürich, Prof. Dr. G. Leimbach-Arnstadt, W. von Zwackh-Heidelberg . . .

148 p. 5010 nrs.

1908. (Issued in Nov., 1907.) No. 108.

Bibliotheca botanica. Eine kostbare Sammlung von Zeitschriften, Büchern und Schriften aus allen Gebieten der Botanik. Hierin die Bibliotheken der verstorbenen Herrn Prof. Dr. E. Pfitzer und Dr. Otto Kuntze.

251 p. 9076 nrs.

1908. (Issued in June, 1908.) No. 112.

Bibliotheca botanica. Supplementum I. Hierin die Bibliothek des Linné-forschers Carl von Flatt-Budapest.

42 p. 1275 nrs.

1908. (Issued in Oct., 1908.) No. 114.

Bibliotheca botanica. Supplementum II. Hierin die Bibliothek des Allogenen Professor F. R. Kjellman-Upsala.

53 p. 2152 nrs.

Weigel, Oswald. Leipzig.

1898. N. F. Nr. 90.

Anatomia et physiologia plantarum.

48 p. 1663 nrs.

1902. N. F. No. 106.

Anatomia et physiologia plantarum.

66 p. 2413 nos.

1904. Neue Folge, Nr. 112.

Cryptogamae. Aus den hinterlassenen Bibliotheken der † Herren . . .

Andreas Allescher (München), Prof. Dr. A. Lemaire (Nancy) u. And.

82 p. 2747 nrs.

1905. N. F. Nr. 118.

Geographia plantarum. Florae. Zum Theil aus den Bibliotheken der † Herren

Prof. S. Sirodot (Rennes), Dr. Ernst Ziekendrath (Moskau) und anderer.

54 p. 1642 nrs.

1906. N. F. Nr. 119.

Phanerogamae et plantae fossiles.

64 p. 2142 nrs.

1908. N. F. Nr. 126.

Alte Botanik. Kräuterbücher.

30 p. 242 nrs.

1909. N. F. Nr. 136.

Anatomia, Biologia, Physiologia, Morphologia et Embryologia Plantarum.

Pathologia, morbi et parasita. Teratologia. Cecidia et insecta noxia.

115 p. 3225 nrs.

Weigel, T. O. Leipzig.Catalog naturwissenschaftlicher Werke. Leipzig, 1852—1855. Classified;
paged continuously:

II. Botanik. 33—66 p. 1853.

VI. Botanik. 131—194 p. 1855.

Ed. by E. A. Zuchold.

Katalog naturwissenschaftlicher Werke des antiquarischen Lagers von
T. O. Weigel. Leipzig, Druck von Wiede, [1856].

1 l., 184 p. 8°.

Conf. Botan. Zeit. 1856, col. 894.

Zuchold, E. A. Leipzig.

Nr. 1. 1861.

Naturwissenschaften. Geographie. Vermischtes.

31 p. 8°.

Mainly botany.

Wesley, William, & Son. London.

1887. No. 82.

Botany.

75 p.

1888. No. 91.

Cryptogamic botany.

20 p.

1888. No. 92.

Botany.

86 p.

Wesley, William, & Son. London.

1891. Nos. 106—109.

Botany: Pts. 1—4.

Paged continuously 1—178.

[1892.] No. 111.

Botany: Supplement.

XII p.

Wheldon, John. London.

1890. No. 125.

Catalogue of botanical works. Part. I. Fungology, including the library of the Rev. M. J. Berkeley.

29 p. 411 nrs.

1891. No. 127.

Catalogue of botanical works. Part II, containing Geographical botany, or floras of various countries.

41 p. 573 nrs.

Supplement to all Sections.**1. Methodology.***Aerdschot, P. van.*

Quelques mots sur la bibliographie botanique.

(In Bull. Soc. roy. de bot. de Belgique XLV (1909), p. 378—392.)

Advocates the establishment of a card catalogue of botanical literature similar to *Bibliographia zoologica universalis*, and reviews the system of literary classification of botany established by the Institut Internationale de Bibliographie (Bruxelles) on the basis of the Dewey Decimal System.**3. General and Comprehensive Bibliographies.***Dahl, Ove.*

Biskop Gunnerus' Virksomhed . . .

(Ibid. 1906. No. 4 (1906). — 1 l., p. 263—362.)

Kap. 4. Tillæg II: Uddrag . . . Hefte 8.

Misnumbered "Hefte 4".

(Ibid. 1907. No. 4 (1907).)

Kap. 4. Tillæg II. Uddrag . . . Hefte 9.

36 p. 8°.

(Ibid. 1908. No. 4 (1908).)

Kap. 4. Tillæg II. Uddrag . . . Hefte 10.

39 p. 8°.

3a. National (Regional) Bibliographies.

U. S. A. — COLORADO.

Allison, Edith M.

Bibliography and history of Colorado botany.

(In University of Colorado Studies VI (1908), p. 51—76.

4. Morphology and Anatomy.

Porsch, Otto.

Ueber einige neuere phylogenetisch bemerkenswerte Ergebnisse der Gametophytenforschung der Gymnospermen. Kritisches Sammelreferat.

(In Festschr. d. Naturw. Vereins an der Universität Wien, Nov. 1907, p. 67—105.)

5. Plant Geography, etc.

Hemsley, W. B.

Bibliography [of publications on insular floras und of the floras of continents].

(In Report of the Challenger Expedition. Botany, I (1885), p. 69—74.)

Warming, J. E. B., and Vahl, Martin.

Oecology of plants. Oxford, 1909.

Literature: p. 374—405.

8. Economic Botany.

Payne, C. Harman.

The florist's bibliography. London, W. Wesley & Son, 1908.

5 p., 1 l., 17—80 p., front. 12mo.

10. Libraries of Institutions.

Edinburgh, Royal Scottish Museum.

List of books, &c., relating to botany and forestry, including the Cleghorn Memorial Library . . . Edinburgh, Neill & Company, 1897.

IV, 199 p. 8°.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Soeben sind erschienen:

Die Wurzelpilze der Orchideen

Ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze

von

Dr. Hans Burgeff,

Assistent am Botanischen Institut der Universität Jena.

Mit 3 Tafeln und 38 Abbildungen im Text.

Preis: 6 Mark 50 Pf.

Das Tuscheverfahren

als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben
der Bakterioskopie

(Absolute Reinkultur, Spirochätennachweis u. a. m.)

Von

Prof. Dr. Robert Burri,

Vorstand der schweiz. milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt in Bern.

Mit 3 Figuren im Text und 16 Photogrammen auf 3 Tafeln.

Preis: 3 Mark.

Lehrbuch der Pharmakognosie

Dr. George Karsten,

Professor an der Universität Halle

von

und

Dr. Friedrich Oltmanns,

Professor an der Universität Freiburg i. B.

Zweite, vollständig umgearbeitete Auflage

von G. Karstens Lehrbuch der Pharmakognosie.

Mit 512 zum Teil farbigen Abbildungen im Text.

Preis: 9 Mark, geb. 10 Mark.

Der Blütenbau

der zygomorphen Ranunculaceen und seine
Bedeutung für die Stammesgeschichte der
Helleboreen

von

Rudolf Schrödinger.

Mit 95 Originalzeichnungen in 24 Textfiguren.

(Abhandlungen d. k. k. zool.-botan. Gesellschaft in Wien. Bd. IV, Heft 5.)

Preis: 2 Mark 50 Pf.

Soeben erschien:

Vorträge über botanische Stammesgeschichte

gehalten an der Reichsuniversität Leiden.

Ein Lehrbuch der Pflanzensystematik.

Von Dr. **J. P. Lotsy.**

Zweiter Band:

Cormophyta zoidogamia.

Mit 553 Abbildungen im Text.

1909. Preis: 24 Mark.

Inhalt: I. Einleitende Bemerkung über die Archegoniaten. II. Beschreibung der Lebensgeschichte eines Mooses. III. Die Lebensgeschichte eines leptosporangiaten Farnes. IV. Das einfachste Moos und die einfachsten Farne. V—IX. Die Hepaticae. 1. Anthoceros. 2. Riccia, das Lebermoos mit der einfachsten 2x-Generation. 3. Sphaerocarpus, das einfachste bekannte Lebermoos, und die Einteilung der Hepaticae. 4. Die Marchantiales. 5. Die Metzgeriales. X.—XII. Die akrogynen Jungermanniales. XIII.—XIV. Die akrogynen Jungermanniales mit typisch zweilappig gefalteten Blättern. XV. Die Laubmoose und deren Zerlegung in Sektionen. XVI. Die Archidonten. XVII.—XX. Schizodonten. Haplolepideae. 1. Dicranaceae. 2. Monocranaceae. 3. Die Ditrichaceae und deren Beziehungen zu den Encalyptaceen. 4. Platyranaceae. XXI.—XXIII. Schizodonten. Dipllepideae. 1. Epicranaceae und Schistostegaceae. 2. Metacranaceae und Bryoideae. 3. Metacranaceae Isobryoideae. XXIV. Metacranaceae. Neckeroideae. XXV. Einleitung zu den Diplodales. XXVI.—XXX. Die Biciliaten. 1. Lycopodiales. a) Lycopodiaceae. b) Lepidodendraceae. c) Sigillariaceae. d) Die Genera Bothriodendron, Spenerites, Mazocarpon, Lepidocarpon, Miadessia und Pleuromeia. e) Die Selaginelleae. XXXI. Die Biciliaten. 2. Die Psilotales. XXXII.—XLVI. Die Polyciliaten. 1. Die Articulaten. a) Die Sphenophyllales und Pseudoborniales. b) Die Equisetales. 2. Die Isoetales. 3. Die Filicales. a) Die Primofilices. b) Die Osmundaceen. c) Die Septosporangiaten. d) Die Eusporangiaten. 4. Die Cycadofilices oder Pteridospermae. 5. Die Cycadophyta. 6. Die Cordaitales und Ginkgoales. — Literatur (zu den einzelnen Vorträgen). — Pflanzennamenregister. — Sachregister.

Im Jahre 1907 erschien:

Erster Band:

Algen und Pilze.

Mit 430 Abbildungen im Text.

Preis: 20 Mark.

Inhalt: 1. Einleitung. 2. Volvocales. 3. Siphonales. 4. Archimycetes und Siphonomycetes. 5. Multizelluläre monoenergetische Isokonten. 6. Stephanokonten. 7. Heterokonten. 8. Desmidiaceae. 9. Die Phaeophytenreihe. 10. Die Peridinales. 11. Die Diatomeen. 12. Phaeophyceae. 13. Rhodophyceae. 14. Die Schizophyten (Bakterien). 15. Schizophyceen. 16. Die Myxobakterien, 17. Myxomyceten. 18. Die Ascomyceten. 19. Erysiphales. 20. Plectascineae. 21. Pyrenomyceten u. Laboulbeniales. 22. Lichenen. 23. Discomyceten. 24. Helvellineae. 25. Eutuberaceae. 26. Exoascineae. 27. Die Saccharomyceten. 28. Basidiomycetes, Hemibasidii. 29. Die Uredineae. 30. Basidiomyceten. — Literatur (zu den einzelnen Vorträgen). — Pflanzennamenregister. — Sachregister.

PROGRESSUS REI BOTANICAE

FORTSCHRITTE DER BOTANIK
PROGRÈS DE LA BOTANIQUE
PROGRESS OF BOTANY

HERAUSGEGEBEN

VON DER

ASSOCIATION INTERNATIONALE DES BOTANISTES

REDIGIERT VON

DR. J. P. LOTSY

DRITTER BAND. DRITTES HEFT



JENA

VERLAG VON GUSTAV FISCHER

1910

Inhalt.

	Seite
WHEELDALE, M.: Plant oxydases and the chemical interrelationships of colour-varieties	457
PAVILLARD, J.: Etat actuel de la Protistologie végétale	474

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

NEUE ERSCH EINUNGEN SEIT 1909.

Abhandlungen der k. k. Zoolog.-Botanischen Gesellschaft in Wien.

- Band IV, Heft 5: Der Blütenbau der zygomorphen Ranunculaceen und seine Bedeutung für die Stammesgeschichte der Helleboreen von Rudolf Schrödinger. Mit 35 Originalzeichnungen in 24 Textfig. 1909. Preis: 2 Mark 50 Pf.
- Band V, Heft 2: Die Moosflora der Julischen Alpen von Jul. Glowacki. 1910. Preis: 1 Mark 80 Pf.
- Band V, Heft 4: Entwurf eines neuen Systemes der Coniferen von F. Vierhapper. Mit 2 Abbildungen. 1910. Preis: 2 Mark 50 Pf.
- Band V, Heft 5: *Veronica prostrata* L., *tenerium* L. und *austriaca* L. von Dr. Bruno Watzl. Nebst einem Anhang über deren nächste Verwandte. Mit 14 Tafeln und 1 Textfigur. 1910. Preis: 7 Mark.

Die Wurzelpilze der Orchideen. Ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze. Von Dr. Hans Burgess, Assistent am botanischen Institut der Universität Jena. Mit 3 Tafeln und 38 Abbildungen im Text. 1909. Preis: 6 Mark 50 Pf.

Die Geographie der Farne von H. Christ, Basel. Mit einem Titelbild, 129 Abbildungen (meist nach Originalphotographien) im Text und 3 Karten. 1910. Preis: 12 Mark.

Die Aufzucht und Kultur der parasitischen Samenpflanzen. Von Prof. Dr. E. Heinricher, Direktor des botanischen Institutes und des botanischen Gartens an der Universität Innsbruck. Mit 8 Abbildungen im Text. 1910. Preis: 2 Mark.

Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Deutsche, wesentlich erweiterte Ausgabe in 25 Vorlesungen. Von W. Johannsen, ord. Prof. der Pflanzenphysiologie an der Universität Kopenhagen. Mit 31 Abbildungen im Text. 1909. Preis: 9 Mark, geb. 10 Mark.

Die Palaeobotanische Literatur. Bibliographische Übersicht über die Arbeiten aus dem Gebiete der Palaeobotanik. Herausgegeben von W. J. Jongmans. Erster Band: Die Erscheinungen des Jahres 1908. 1910. Preis: 7 Mark.

Rosenkrankheiten und Rosenfeinde. Eine Anleitung die Krankheiten und Feinde der Rosen zu erkennen und zu bekämpfen. Von Dr. Richard Laubert und Dr. Martin Schwartz. Mit einer farbigen Tafel. 1910. Preis: 1 Mark.

Carl von Linnés Bedeutung als Naturforscher und Arzt. Schilderungen, herausgegeben von der Königl. schwedischen Akademie der Wissenschaften, anlässlich der 200jährigen Wiederkehr des Geburtstages Linnés. 1909. Preis: 20 Mark, geb. 21 Mark 50 Pf.

Inhalt: Carl von Linné als Arzt und medizinischer Schriftsteller. Von Otto E. A. Hjelt. [Einzelpreis: 6 Mark.] — Carl von Linné und die Lehre von den Wirbeltieren. Von Einar Lönnberg. [Einzelpreis: 1 Mark 80 Pf.] — Carl von Linné als Entomolog. Von Chr. Aurivillius. [Einzelpreis: 1 Mark 80 Pf.] — Carl von Linné als botanischer Forscher und Schriftsteller. Von C. A. M. Lindman. [Einzelpreis: 6 Mk.] — Carl von Linné als Geolog. Von A. G. Nathorst. [Einzelpreis: 4 Mark 50 Pf.] — Carl von Linné als Mineralog. Von G. Sjögren. [Einzelpreis: 1 Mark 80 Pf.]

Leitfaden für gärtnerische Pflanzenzüchtung. Von Max Löbner, Inspektor am Kgl. botanischen Garten und der pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Dresden. (Preisschrift des Vereins zur Beförderung des Gartenbaues in den Kgl. Preussischen Staaten.) Mit 10 Abbildungen im Text. 1909. Preis: kartoniert 1 Mark 50 Pf.

Plant oxydases and the chemical inter-relationships of colour-varieties.

By

M. Wheldale,

Fellow of Newnham College, Cambridge, England.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

As an outcome of the development of the science of genetics we have come to look upon any species as a complex of unit characters. In many cases these unit characters have been shown to be the outward manifestation of the existence within the animal or plant of definite bodies which have been termed Mendelian factors. The inheritance and interrelationship of the factors for certain characters are well known in many species, both of animals and plants, but of the physiological nature of these factors we are almost entirely ignorant. Yet, if the study of heredity is to occupy a central position among the biological sciences, the necessity for identifying Mendelian factors with the chemical or physiological constituents of the animal or plant cannot be too strongly emphasised.

Thus, for instance, among the characters employed for working out the problems of genetics, not one has proved more responsive and fruitful of results than pigmentation. The knowledge, however, that certain colours are due to the operation of certain Mendelian factors is in itself insufficient. For, from the point of view of the biochemist, a pigment is the product of certain metabolic activities; these must be interpreted in terms of factors and for this purpose both investigators must work hand in hand.

With this end in view I have made an attempt in the following pages to show how far the recent work of the biochemist upon colour formation may be reconciled with the Mendelian conception of the character pigmentation.

Pigmentation in Flowering Plants.

To the casual observer the range of colouring exhibited by flowering plants suggests the existence of an almost infinite variety of pigments. Yet, apart from chlorophyll, and other allied substances in the green colouring matter of foliage leaves, these bodies have received but scanty attention. The majority of botanists have been satisfied with such a classification as the microscope provides. This method enables us at once to differentiate between pigments soluble in the cell-sap, permeating the cell (anthocyanin), and pigments bound up with the structure of specialised protoplasmic bodies distributed through the protoplasm (plastids). Flower colour may be due to representatives of either one or both of these classes.

From the plant physiologist and the biochemist we gain further information, namely, that the two classes are not interdependent; that the colouring matters, moreover, of each class are represented by organic bodies of different chemical nature and are products of different spheres of metabolic activity. Those constituting the soluble class are, in all probability, members of the aromatic benzene group and contain the elements carbon, hydrogen and oxygen. On the other hand, the plastids, to which many yellow and orange flowers owe their colour, are undoubtedly derived from green chloroplastids in metamorphosis of foliage leaves. Of the nature of the plastid pigments, very little is known, but such knowledge as we have indicates that they may be ranked as hydrocarbons and if this be so, the elements carbon and hydrogen are alone essential to their composition.

For the present we are not concerned with plastid pigments; for us the centre of interest lies with those bodies, which, in solution in the cell-sap, give the red, purple and blue colours to flowers, fruit and in many cases also to stems and leaves.

As I have already stated, the general term — anthocyanin — has been used indiscriminately for all such forms of soluble colouring matter. A few isolated attempts at differentiation and classification have been made, it is true, from time to time by various investigators, foremost among whom may be mentioned Weigert, Wiesner, Overton and Grafe. But the outcome of these efforts has not as yet been very far-reaching.

There can be little doubt that, as a class, many of these soluble pigments closely resemble each other in general properties and characteristics; yet, in my belief, chemical analysis, combined with exact knowledge of the genetics of flower-colour, will go very far towards proving that there are many constitutionally different forms of anthocyanin and even, quite conceivably, a specific form for each

species. In fact, no more suitable character could be selected for demonstration of the statement that specific differences are merely the outward expression of differences in chemical constitution.

As to distribution of pigment among flowering plants, it is exceptional rather than otherwise, to find a species, still more a genus, from which anthocyanin is entirely absent. The frequent appearance of colouring matter in flowers and fruit is a matter of common observation; at the same time, many species develop only a trace of pigment in restricted areas, such as at the nodes, in petiole bases, stipules, bracts and so forth. In fact the amount of pigment produced varies within wide limits, ranging from a local development to a universal colouring such as we find in the Copper Beech and many *Amarantaceae*.

Pigmentation and Enzyme Action.

Until quite recently the idea of pigment formation as the outcome of ferment action has been limited to those cases where the result is readily apparent. As such may be quoted the rapid formation of black Japanese lacquer from the white latex of the lacquer-tree (*Rhus vernicifera*) on exposure to air; also the discolouration of cut surfaces of pears, apples, potatoes and of the fructifications of many of the higher Fungi. As early as 1883, a Japanese chemist, Yoshida, came to the conclusion that lacquer arose from the oxidation of the latex by the aid of a peculiar enzyme in the presence of air and moisture. Later researches by Bertrand¹⁾ have supported this conclusion. To the lacquer-producing ferment, which he included among the oxidising enzymes (oxydases), Bertrand gave the name laccase: the chromogen, upon which the ferment acts, and which he found to be an aromatic compound, he termed laccol. Subsequently he discovered the enzymes laccase and tyrosinase to be responsible for the darkening of the juice of potatoes and of various fruits, Fungi, etc. In brief, Bertrand was one of the first investigators to corroborate, on the basis of reliable experiments, the view that various oxidising ferments may act as oxygen carriers, transferring oxygen from the air to colourless oxidisable substances of an aromatic nature within the plant; that, moreover, the oxidised product is a pigment which by a process of reduction may again be transformed into its colourless chromogen.

¹⁾ Compt. Rend. 1894, 1895, 1896.

Broadly speaking, I believe anthocyanin formation to be analogous to the particular oxidative processes, so strikingly illustrated by the activities of laccase and tyrosinase. Nevertheless one important difference must be borne in mind, namely, that whereas lacquer, and the brown or black bodies formed on injury, are the after products of disintegration and death, anthocyanin is the pigment developed by the living plant.

I have elsewhere¹⁾ given evidence for my belief that except in certain cases²⁾ plant cells in general contain soluble aromatic substances of the nature of flavones; unquestionably anthocyanin is also very widely distributed: further, and to this point I shall return later, it is highly probable that all living tissues of anthocyanic plants have the power to form oxydases. Hence the deduction, upon which I wish to lay emphasis, is, that certain oxydases may act as oxygen-carriers transferring oxygen to the flavones and thereby oxidising them to coloured products — anthocyanin. The latter may be again transformed into chromogens by the reducing action of other bodies in need of oxygen. If such be the case, every cell is provided with the mechanism for anthocyanin formation; it is not however this mechanism alone which controls the production of pigment but the sum total of the metabolic activities of the tissues.

In short, anthocyanin may be regarded as the by-product of oxidative metabolism. Should the local oxidising capacity of any tissue be greater than its reducing power, this is indicated by the local appearance of anthocyanin; if the reducing be greater than the oxidising power, no pigment results. The evidence, upon which the validity of the above statement rests, will now be discussed in some detail.

The Theory of Chodat and Bach.

Until the appearance of the work of Chodat and Bach³⁾, no very clear conception had been formulated as to the nature and mode of action of oxydases. The publications of these authors have done much to explain the misconceptions of earlier workers and

¹⁾ Proc. Cam. Phil. Soc., Vol. 15. 1909.

²⁾ In *Antirrhinum majus* and *Phlox Drummondii* an albino variety arises through loss of power to form the chromogen. Cf. Wheldale, Proc. Roy. Soc. B., Vol. 81. 1909.

³⁾ Various papers in the Ber. d. d. chem. Ges. 1903 and following years.

it is to them we owe the greater part of our present knowledge of oxidising enzymes.

On the basis of their theory, two components are essential to the constitution of an oxydase and these have been termed peroxide and peroxydase respectively. Many plants, according to Chodat and Bach, contain organic bodies, capable of autoxydation, that is of annexing an extra oxygen atom, thereby becoming organic peroxides, analogous in constitution to hydrogen peroxide. This superoxidation may sometimes be brought about through the agency of an enzyme, in which case a new term is used for the autoxydator, i. e., oxygenase. Both oxygenase and peroxydase have properties in common with other ferments, that is they are destroyed by heat, precipitated by alcohol, are soluble in water, etc. Whereas the function of the oxygenase is to reactivate the peroxide after reduction that of the peroxydase is to reduce the peroxide, transferring its extra oxygen atom to bodies of an oxidisable nature in the plant so that heat and energy may be liberated. Such a body, and one which may be used artificially as an acceptor of oxygen, is guaiacum. A solution of guaiacum in alcohol is yellowish in colour but the addition of a small quantity of oxydase solution immediately produces an intense blue colour. The oxydase has all the necessary mechanism for transferring molecular oxygen from the air to the oxidisable guaiacum; the peroxydase, however, can only blue guaiacum when a peroxide, such as hydrogen peroxide, is artificially supplied.

Certain results obtained by fractional precipitation of oxydases with alcohol, support the idea of their dual nature. Chodat and Bach found, for instance, that the oxygenase in the sap of *Lactarius*, one of the Basidiomycetes, was largely precipitated by 40 per cent alcohol, while the peroxydase remained in solution. The isolated portions were inactive or very much weakened, but the activity returned on recombining the constituents.

I have found the oxygenase component to be more sensitive to the action of absolute alcohol than the peroxydase. When tissues containing an oxydase are treated with absolute alcohol, the longer the exposure, the weaker the guaiacum reaction becomes, until it entirely disappears, though the peroxydase can still be detected on addition of hydrogen peroxide.

Tests for oxydases and peroxydases.

The use of freshly prepared¹⁾ guaiacum tincture has already been mentioned. In referring to this test, the blueing given by an oxydase is termed the direct action, that given by the peroxydase on addition of hydrogen peroxide, the indirect action.

Another reaction, which may be used as a control, is the liberation of iodine from a slightly acidified potassium iodide solution, the free iodine being detected by means of starch solution.

In addition, the indo-phenol test may be employed, i. e., the formation of a violet colour on addition of an oxydase to solutions of paraphenylenediamine and α -naphthol.

I have found all powerful oxydases bring about the above reactions, but there are cases in which the starch iodide test fails though the direct guaiacum action is developed to some degree and the indophenol action after a lapse of time.

Distribution of Oxydases.

Among a collection of plants selected more or less at random from various Natural Orders, it will be found that many species, widely distributed among the Orders, give a direct oxydase reaction but at the same time other species quite as frequently give the indirect action only, that is after addition of hydrogen peroxide.

It cannot by any means be always predicted whether the extract of any plant will show the oxydase capacity; when, however, discolouration arises on injury to the tissues, this phenomenon may generally be taken as an indication of the presence of one of these enzymes.

Though the direct action is more or less restricted to certain species, the indirect action may be said to be almost universally given by extracts of living tissues. Thus, for instance, of the Ranunculaceae, the sap of flowers of *Anemone* spp. and *Trollius* spp. has a direct blueing action on guaiacum; that from *Ranunculus* spp. on the other hand only blues guaiacum on addition of hydrogen peroxide. Not only do genera differ in this respect but also species

¹⁾ Guaiacum solution itself is capable of autoxydation to some extent on exposure to air. Hence erroneous results may be obtained unless the tincture is freshly prepared each time before using.

among themselves; flowers of the tall perennial *Delphinium* spp. give a direct action whereas only an indirect action can be obtained from flowers of the annual *D. consolida*.

In some cases where neither reaction can be detected, it is highly probable that there is a suppression of the oxydase activity through the simultaneous presence of bodies of a strongly reducing nature. In confirmation of this suggestion Hunger¹⁾ has shown that cocoa-nut milk from young nuts gives no blueing with guaiacum owing to the interference of sugars present. The older nuts, in which the sugars have been replaced by fats, give a strong oxydase reaction. The same kind of observation is recorded by Aso²⁾ of the Kaki-fruit: here the suppression of the guaiacum reaction arises from presence of tannin; when the tannin is removed by treatment with alcohol, the oxydase can readily be detected.

In all probability, some such inhibiting body is responsible for the non-appearance in many plants of the oxydase reaction though that of the peroxydase may be given. Chodat and Bach suggest that inability to give a direct guaiacum reaction, is due in many instances rather to the present of powerful reducing substances which deoxidise the peroxide than to the absence of part of the oxidising mechanism.

Autolysis.

A certain interdependence has been found to exist between the effects produced by autolysis³⁾ and the presence of oxydase activity. When plants are submitted to autolysis in an atmosphere of chloroform vapour, changes in colour usually result within half an hour or so of immersion. These changes may be described as follows:

A. The whole plant, including the flowers, becomes brown. When the flowers are pigmented with anthocyanin, the latter is destroyed and replaced by the brown colouration.

B. The colour of the flowers only is changed. Purple anthocyanin becomes bluer or entirely blue; red anthocyanin sometimes slightly bluer whereas blue anthocyanin remains unaltered.

¹⁾ Über die reduzierenden Körper der Oxydase- und Peroxydasereaktion. Ber. d. d. bot. Gesell., Bd. XIX. 1901.

²⁾ A physiological Funktion of oxydase in Kaki-fruit. The Bot. Mag. Tokyo, 1890, Vol. XIV No. 166.

³⁾ In animal physiology the term autolysis is used to mean self-digestion. In this paper I am following the usage of several botanists in employing the term to denote the changes which follow death produced by vapour of chloroform, toluol, etc.

C. More rarely white flowers become red and tinged flowers deeper in colour.

As a rule the results of autolysis cannot be predicted; but as in the case of the oxydase reaction, if bruising causes discolouration, autolysis will produce a brown colour. The same result may be brought about by crushing the plant in a mortar and sometimes by immersion in absolute alcohol. There is undoubtedly some intimate connection between the appearance of this brown colouration and the oxydase activity of the plant; for positive results with oxydase tests always accompany browning on autolysis, whereas plants which only show changes in anthocyanin colour, do not as a rule give strong oxydase reactions. Death, or injury to the protoplasm, caused by treatment with chloroform or immersion in alcohol, must in some way release the oxydase from the bonds of the inhibitive factors which regulate the activities of oxydising enzymes in the living tissue. The result is a rapid transference of oxygen to oxidisable bodies in the cell-sap and an immediate production of brown pigment.

Cases of post-mortem production of pigments comparable to these autolytic changes are those of the indigo-producing plants, *Indigofera*, *Isatis*, etc. Indigo, as is well known, results from the action of an oxydase, indicase, upon a chromogen, indican; moreover the pigment is not produced in the uninjured plant. Another interesting case and one which has been worked out in detail by Miss Tammes¹⁾, is that peculiar to the Dipsaceae. In genera of this order, a blue pigment, dipsacotin, is the oxidation product of an enzyme, dipsacase, acting upon a colourless chromogen, dipsacan. Miss Tammes has shown that the pigment is only formed after death and then a raised temperature between 35°—100° C is also essential. Yet another remarkable instance is that described by Molisch²⁾ for *Schenckia blumenaviana*, a species of Rubiaceae. The plant is normally green with white flowers but injury or the action of chloroform vapour immediately induces the formation of an intensely red pigment.

The significant point in connection with the above phenomena is that the pigments resulting after death are never formed in living healthy tissue. The most reasonable inference is that post-mortem pigments are the abnormal products of oxydases, of which the activities are directed towards another end, during the life of the plant. It is otherwise inconceivable that some metabolic disturbance should not give rise to indigo, dipsacotin, etc., as the case may be, in the living plant.

¹⁾ Dipsacan und Dipsacotin, ein neues Chromogen und ein neuer Farbstoff der Dipsaceae. Extrait du Recueil des Travaux botaniques Néerlandais, Vol. V. 1908.

²⁾ Über ein neues, einen karminroten Farbstoff erzeugendes Chromogen bei *Schenckia blumenaviana*. Ber. d. d. bot. Gesell. 1901.

To proceed further, these oxydases are perhaps engaged normally in oxidative metabolism. A local difference of metabolism, resulting in a lessened reducing capacity of the tissues, such as we find in the flower, ripening fruit and developing shoots, or a more general disturbance, such as accompanies autumnal colouring, leads either to a local or a general production of the normal oxidative product of these oxydases — anthocyanin. Artificially the same result may be obtained by feeding the plant with carbohydrates as Overton¹⁾ and Katić²⁾ have shown; a low temperature, also, will increase tingeing in flowers, for example, certain varieties of *Primula*, *Rosa*, which are nearly white when kept under warmer conditions. But the more serious derangement due to death and injury leads to the formation of such abnormal products as the post-mortem pigments.

There is some experimental evidence in favour of this view. I found all plants which became brown on autolysis, to be anthocyanic. Moreover, among autumnal Chrysanthemums, the pure white variety shows autolytic changes and gives the oxydase reactions to a far less extent than the coloured varieties. The case of *Dipsacus* also suggests that the oxydase may form different products under different conditions; for *Dipsacus* leaves on autolysis at ordinary temperatures rapidly turn brown and do not produce blue dipsacotin. On the other hand, indigo is produced at ordinary temperatures; hence we should expect autolysis to induce indigo formation and this has been confirmed by Walther³⁾ and Molisch for *Polygonum tinctorium* and other indigo plants. Further evidence is furnished by *Matthiola*⁴⁾; flowers of this genus give some direct action with guaiacum but no starch-iodide test. Certain varieties, 'hoary whites', become tinged with red on fading; in cross-breeding, these 'hoary whites' behave as anthocyanic forms. On autolysing, the white flowers become perceptibly red. Hence, in this case, when the oxydase is freed, the normal product of its activity, i. e. anthocyanin, is apparently produced.

As to why the oxydase activity is let loose in some species after death, while in others it remains in abeyance, I can at present offer no suggestion. It is more reasonable to postulate the existence of inhibitors, in some cases affected by autolysis or injury, in other cases, unaffected, than to suppose such a vital mechanism as oxydase activity to be present in some species and absent from others.

¹⁾ Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. 1899.

²⁾ Beitrag zur Kenntniss der Bildung des roten Farbstoffs. Inauguraldissertation. Halle a. S. 1905.

³⁾ Zur Frage der Indigobildung. Ber. d. d. bot. Gesell. 1908.

⁴⁾ Saunders, Reports to Evol. Comm. Roy. Soc., Vols. I, II, III.

The general distribution of peroxydases is favourable to the view that oxydases are universally formed; it is the oxygenase element which is sensitive to inhibitors and the oxydase tests are solely indicative of the activity of this component of the enzyme. Some authors, notably Gonnermann¹⁾ and Bertel²⁾ consider the darkening of extracted plant juices to be due to the presence of homogentisic acid, one of the oxidation products of tyrosinase on tyrosin. Solutions of this acid rapidly darken when exposed to air. Gonnermann's results are based chiefly upon experiments with Beet-root sap. Schulze³⁾ on the other hand, was unable to detect homogentisic acid in the Beet-root and only found small quantities of tyrosin. Tyrosinase is undoubtedly present in potato tubers, beet-root and fructifications of many Fungi and is probably the cause of the darkening of these bodies: at the same time, other oxydases, in addition, must be present, since the extracts, like those from all other plants which turn brown on autolysis, give the blueing with guaiacum which tyrosinase itself is unable to produce.

Palladin's Respiration-Pigments.

The conception of an oxidation mechanism consisting of an aromatic chromogen in conjunction with an oxydase forms in outline the basis of Palladin's respiration theory.⁴⁾ I am not in a position to criticise the validity of this theory solely as an exposition of the mechanics of respiration. It must be admitted, however, that in bringing forward his hypothesis, Palladin has done much to emphasize the connection existing between oxidation processes and pigment formation. According to this author, aromatic chromogens, frequently in combination with sugars in the form of glucosides, are very widely distributed in plants. His evidence is largely based upon the results of autolysis and of the action of artificially prepared peroxydase from the Horse-radish root upon plant juices. He found that when a little peroxydase solution, together with hydrogen peroxide, was added to the extracted sap (in which all ferments had

¹⁾ Pflüg. Arch., Bd. LXXXII p. 289 (1900). Über die Homogentisinsäure. Ber. d. d. bot. Gesell., Bd. XXI. 1903.

²⁾ Über Tyrosinabbau in Keimpflanzen. Ber. d. d. bot. Gesell., Bd. XX. 1902.

³⁾ Über die bei Luftzutritt eintretende Dunkelfärbung des Rübensaftes. Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 50. 1906—07.

⁴⁾ Über das Wesen der Pflanzenatmung. Biochem. Zeitschr. 1909 and literature quoted therein.

been destroyed by heat), of many plants, red or reddish brown pigments were developed. These bodies can again be reduced to colourless chromogens by the action of reducing agents. Hence Palladin says there is, in general distribution among plants, a mechanism consisting of aromatic bodies in combination with oxydases, for the purpose of transferring atmospheric oxygen to bodies of a combustible nature. Respiration, he maintains, is broadly separable into two stages: first, the anaerobic splitting of carbohydrates into alcohol and carbon dioxide and secondly, the aerobic oxidation of alcohol at the expense of the "Atmungspigmente". Palladin enumerates anthocyanin among his respiratory pigments but he does not draw any distinction between the living product of oxidation and the brown products of autolysis.

Pigmentation and Genetics.

Much light has been thrown upon the physiological nature of pigmentation through Mendelian analysis. It is a matter of common observation that natural species under cultivation give rise to derivative colour-varieties, in some cases, to a very great extent. The inheritance and interrelationships of the colour-varieties of several species have now been worked out in detail and the main result of careful analysis shows that for the production of the pigment of the type, a large number of bodies, which may be represented as Mendelian factors, are sometimes essential. Loss of some one or more of these factors gives rise in turn to the horticultural varieties. If it be granted that pigment formation is due to ferment action, then the identification of some, at least, of the Mendelian factors for pigmentation with oxidising enzymes is a reasonable inference.

On this supposition, it is true, the development of anthocyanin becomes, in many cases, a highly complex process involving a series of progressive stages. Yet a simple explanation would hardly be adequate for the existence of some ten to twenty derivative varieties, Mendelianly segregable and independently carrying the elements for production of the colour of the type as proved by reversion on crossing.

If we select species having the most usual type colour, namely bluish-red or purple anthocyanin, two main derivative classes are commonly recognisable:

1. The true red anthocyanic class.
2. The non-anthocyanic or albino class.

Examples of red varieties arising from a purple type are very numerous. As illustrations may be quoted the 'reds' of Sweet Peas, the 'Rose doré' of *Antirrhinum*, the 'Orange King' of *Primula sinensis*, the 'Salmon-Rose' of *Phlox Drummondii*, *Dianthus barbatus* and many others.

We find a comparable 'red' variation from a blue type in *Centaurea*, *Aster*, *Hyacinthus*, *Campanula*, *Delphinium*, *Salvia*, etc. It is unnecessary to give illustrations of the second class, for albinism is the most frequent variation under cultivation.

Before giving the interpretation of the Mendelian factors in terms of oxydases, it will be advantageous to describe briefly the chemical properties of anthocyanin.

The Chemical Nature of Anthocyanin.

It will generally be found that the alcoholic extract of an albino and of the uncoloured parts of pigmented plants gives reactions characteristic of a group of aromatic compounds known as the flavones. The constitution of these bodies is such as to give great scope for isomeric variety and though some flavones are common to many species, others may be in themselves specific. Careful isolation and analysis is necessary before we can formulate the constitution of the flavone present in any species. One of the most characteristic reactions of these substances is the immediate production of an intense yellow colour when brought into contact with alkalis or ammonia vapour. Hence the cell-sap of all unpigmented organs becomes bright yellow in ammonia vapour; this reaction is very readily demonstrated in the flowers of albinos or the white flowers of pigmented species.

With an extract of bluish-red, purple or blue anthocyanin, a different set of reactions is obtained. Here the result is due to the presence of two substances, the unaltered chromogen and its purple or blue oxidised product. We may suppose the oxidised products to differ from each other much in the same way that the initial chromogens vary among themselves. The pigment closely resembles the flavone in its general behaviour towards chemical reagents except that the range of colour reactions is different. The oxidised product gives a blue colour with alkalis, whereas the chromogen, as previously stated, gives a yellow colour. The result, therefore, of alkali action on the combination is green due to the mixture of yellow and blue.

True red anthocyanin, on the other hand, is usually without blueness as measured by alkali, so that an extract gives a reddish-yellow colour with caustic potash or ammonia solution. It is not only with alkalis that the different forms of anthocyanin give different colour reactions but also with other reagents, such as ferric and ferrous salts, ammonium molybdate, sodium phosphate, etc.

The Interpretation of Mendelian Factors in terms of Oxydases.

In recapitulation we may now assume that unpigmented parts of plants contain a flavone in solution; from the flavone two classes of oxidised products arise in two stages i. e. the true red and the bluish-red, purple or blue anthocyanins. Such evidence as we possess at present points to the conclusion that this oxidation is the outcome of enzyme activity. The question then arises: How are the Mendelian factors for colour to be interpreted in terms of oxydases? An answer is embodied in the statement that a series of enzymes are concerned in the various stages of colour formation; these enzymes may be expressed as Mendelian factors and their activities are, in many cases, interdependent.

Thus, for instance, red anthocyanin may be regarded as a more highly oxidised and coloured product of an oxydase (oxygenase-peroxydase) acting upon a colourless flavone; this oxydase therefore is equivalent to the 'reddening factor' of the Mendelians. Similarly a second oxydase, the Mendelian 'blueing factor', leads to the formation of purple anthocyanin from the product (red anthocyanin) of the action of the reddening oxydase. But the blueing oxydase is unable to oxidise the unaltered chromogen directly. Such an explanation lies within the bounds of our knowledge of oxydases and their functions and certainly affords a working hypothesis for the interpretation of the results of cross-breeding. If the power to form the blueing oxydase is lost from the purple type, a red variety arises, if the reddening oxydase is absent, an albino, which may, however, still retain the ferment capacity of the blueing oxydase. Among the records of cross-breeding there are many instances of reversion to the purple type when a red variety is mated with a white carrying the blue factor.

One of the most striking phenomena revealed by experiments with Sweet Peas and Stocks is the genesis of coloured offspring from the mating of two albinos.

In all probability, the explanation of this anomaly lies in the dual nature of oxydases, in that they consist, as we have seen, of oxygenase and peroxydase. If we suppose the plant to lose the oxygenase activity apart from the peroxydase, then two kinds of albinism would result; in one the peroxydase link is missing from the mechanism for carrying oxygen to the chromogen; in the other the oxygenase element. In neither case can there be any development of anthocyanin, but on mating of two such albinos, the mechanism is again complete and pigment formation becomes possible.

We can still further extend this idea of the independent inheritance of the two components of an oxidising enzyme in connection with the colour genetics of Stocks.¹⁾ The action of the red oxydase alone, as previously stated, produces a true red variety. But it is quite conceivable that the oxygenase half of the blueing oxydase may operate in conjunction with the reddening oxydase, thereby giving rise to a bluish-red variety intermediate between the true red variety and the purple type; on similar lines, the blueing peroxydase may work together with the reddening oxydase and this combination would account for the existence of a second, slightly different, bluish-red variety. Finally, when both reddening and blueing ferments are intact in the plant, we arrive at the purple type. In this way we can represent both in terms of Mendelian factors and in terms of oxydases the series of genetically distinct varieties which actually exist, ranging as they do from true red, through bluish-red to the purple of the type.

The foregoing representation of Mendelian factors in terms of oxydases is not purely speculative. Experimentally the petals of Sweet Pea and Stock plants of known pedigree have been found to vary with respect to their oxidative powers on guaiacum. It is evident that the loss of either element, oxygenase or peroxydase, from the initial reddening factor will give rise to albinism even though the albino may carry blueing or other modifying factors. Hence in any genus having a complex series of colour varieties, there are a number of possible albinos, both genetically and physiologically different from each other. By selection we are able to procure an albino carrying any particular factor and it is to a large extent the behaviour of these extracted albinos toward guaiacum which has led me to infer that there is a definite connection between Mendelian colour factors and oxidising enzymes.

¹⁾ Saunders, Reports to Evolution Comm. Roy. Soc., I, II, III, IV.

The Inhibitors of Anthocyanin.

We must finally turn to the consideration of the causes which prevent the development of pigment and restrict its appearance to local areas only. The inhibition of anthocyanin is, in all probability, brought about by deoxidising substances in the tissues. Except in the case of certain partially inhibiting factors, which will be dealt with later, there is no evidence in favour of the existence of special reducing ferments or reductases, of which the sole function is to deprive anthocyanin of its oxygen. Suppression of pigment formation in green leaves, stems and white flowers of anthocyanic species is more likely due to the products of activity of enzymes involved in other metabolic processes connected with respiration and assimilation. Provided the lack of pigment is in some way related to ferment action, we have no difficulty in reconciling this point of view with the Mendelian conception of inhibition. The appearance of redleaved varieties of Hazel, Beech, and *Prunus* certainly suggests the loss of a definite factor; the same may be said for the origin under cultivation of fully coloured varieties of *Cyclamen persicum*, *Primula acaulis*, *P. elatior*, *Bellis perennis*, *Anemone japonica*, *Coreopsis* and other species in which the flowers of the anthocyanic type are either unpigmented or merely tinged with anthocyanin. In such instances, it might be supposed that the loss of some ferment and the consequent removal of the deoxidising products of its activity would enable pigment to accumulate in the tissues. The Cocoa-nut and Kaki fruit afford a concrete example of this kind of interaction; for, as previously stated, extracts from these fruits only oxidise guaiacum after the artificial removal of the sugar or tannin as the case may be.

Inhibition in the above sense has been used in reference to the complete suppression of pigment. There is, however, another series of phenomena illustrating reduction in the amount of pigment which call for a somewhat different explanation. Among several genera, for instance *Matthiola*, *Lathyrus*, *Primula*, and *Antirrhinum*, it is now a well-established fact that pale varieties are dominant to more deeply coloured varieties, that is there are definite factors in the pale forms which dilute the colour. For these partial inhibitors, it is necessary to postulate some kind of limiting factor or 'reductase' more intimately associated with pigment enzymes than the general inhibitors appear to be. This distinction is well illustrated by the genus *Antirrhinum*. The true red variety — rose doré — of *Antirrhinum* is obviously without the blueing factor; the magenta type, on the other hand, contains the blueing factor. Both type and variety have some pigment in stem and leaves, and just as in the floral organs, the kind

of anthocyanin in the vegetative parts is either red or magenta. Artificial conditions, such as low temperature, feeding with carbohydrates, etc. would not alter the kind but only the amount of pigment developed. In the same way no metabolic change will induce colour-formation in an albino. Katić found this to be true of onion bulbs; variations in temperature, light or nutrition failed to bring about development of anthocyanin in the bulbs of an albino variety, whereas similar changes produced an increase of pigment in the bulb scales of the anthocyanic type.

In addition to the red and magenta classes in *Antirrhinum* there are pale and deep varieties in each class; for the magenta, it has been shown experimentally that the pale variety is dominant to the deep and contains a definite factor which causes partial diminution of the colour. Here, again, if, by artificial means, we increase the formation of pigment in the vegetative parts, the anthocyanins produced in the pale and deep varieties will be respectively of the pale and deep kinds.

The distinction which I have drawn between total and partial inhibitors may it is true, be one of degree only. Partial inhibition may quite well be due to the presence of a reducing sugar, the product of some hydrolysing enzyme and not necessarily to a specific reductase antagonistic in action to the oxydases. Such speculations must however be left for the present until more biochemical evidence is provided.

Attention may nevertheless be drawn to the distinction between tinged or picotee varieties and inhibited varieties. The tinged varieties as far as we know for genera examined are lacking in one of the oxygenases essential for full colour, so that insufficient oxydation is the cause of lack of colouring. Inhibited varieties, on the other hand, have all the mechanism for full colour production but in addition they carry a factor which limits the extent of oxidation and hence the intensity of colouration.

Note added May 6th 1910.

Since writing the above account I have come to the conclusion that the rapid formation of a brown or reddish-brown colouration in many genera under the influence of chloroform vapour is due to the action of a glucoside-splitting ferment in connection with an oxydase. It is an established fact that exposure to the action of anæsthetics brings about the interaction between glucosides and their corresponding ferments.¹⁾ Thus, for instance, plants containing cyanogenetic and mustard-oil glucosides produce the characteristic odours of prussic acid and allylsulphocyanate strongly when exposed to the action of chloroform.

In the case of respiration-pigments we may suppose the chromogens in the plant to be combined with sugar in the form of glucosides. It is only after the action of the glucoside-splitting ferments that the chromogen itself can be attacked and oxidised by oxydases.

The same idea has been brought forward by Palladin under the term "prochromogen"²⁾ which he applies to respiration-chromogens in combination with sugar. In such a form they may be stored up and are unaffected by the oxidising ferments. Through the action of the glucoside splitting ferments the chromogens are freed and may serve as oxygen carriers. Hence this combination with sugar may be regarded as the inhibiting or retarding influence to an excessive oxydation in the living plant.

It is highly probable that anthocyanin formation, in the same way, is dependent on both glucoside-splitting and oxydising enzymes.

¹⁾ Armstrong, E. F., The simple Carbohydrates and the Glucosides. Also: Mirande, M., Influence exercée par certaines vapeurs sur la cyanogenèse végétale. Compt. rends. 1909.

²⁾ Palladin, W., Über Prochromogene der pflanzlichen Atmungschromogene. Ber. d. d. bot. Gesellsch. 1909.

Etat actuel de la Protistologie végétale.

Par

J. Pavillard,

Professeur-adjoint à l'Université de Montpellier.

La Protistologie n'est pas la science d'un monde vivant particulier, évoluant sur la Terre à côté des Animaux et des Végétaux. Le postulat systématique d'un „Règne des Protistes“ formulé par Haeckel, s'est lentement évanoui, à la lumière des découvertes modernes, comme un artifice didactique désormais inutile.

Mais la notion morphologique de Protistes a survécu, base fondamentale et nécessaire d'une discipline nouvelle, qui a bientôt conquis une place éminente dans l'immense domaine des sciences biologiques.

Partant de ce principe que le problème des origines est un problème cellulaire, la Protistologie prétend contribuer directement à la résolution de ce problème, en demandant le secret de la vie et de l'évolution cellulaire aux organismes élémentaires, considérés, à la clarté de la théorie évolutionniste, non seulement comme les plus simples, mais comme des Primitifs.

Par son objectif immédiat, par sa technique particulière, par les procédés de recherche et d'investigation qu'elle met en œuvre, la Protistologie se présente comme une cytologie comparée des Etres inférieurs.

Par son orientation générale et ses tendances dominantes, elle nous apparaît comme une morphologie phylogénétique des organismes unicellulaires, c'est à dire comme un des chapitres les plus essentiels de la philosophie naturelle.

Schizophyta.

Dans un remarquable article, bien digne de servir de prologue à l'admirable publication fondée par Fritz Schaudinn, Richard Hertwig¹⁾ a magistralement établi les bases de la nouvelle discipline, et montré comment les documents précis introduits par la microtechnique moderne, doivent s'amalgamer avec les spéculations phylogénétiques toujours en honneur auprès des philosophes naturalistes contemporains.

Quelques mois plus tard, dans le même premier volume, Schaudinn²⁾ posait lui-même la première pierre de l'édifice, avec la monographie d'une Bactérie, étrange autant que géante, *Bacillus Bütschlii* une voie nouvelle est désormais ouverte, dont la fécondité s'affirme de jour en jour avec plus d'évidence, et nous promet bien des surprises.

Bactériacées et Cyanophycées, Schizophytes essentiels, arrêtés dans leur essor vers la plénitude de la différenciation cytologique, s'imposent ainsi à notre attention immédiate, comme premiers bataillons organisés, dans cette Revue rapide de la Protistologie végétale.

Bacteria.

(Schizomycetes.)

Nous distinguerons avec Alfred Fischer³⁾ et avec Lotsy⁴⁾, deux grandes séries de Schizophytes incolores :

Les Trichobactérinées, comprenant les formes typiquement filamenteuses, *Crenothrix*, *Cladothrix*, *Beggiatoa*... etc., et les Haplobactérinées, subdivisées en trois familles, Coccacées, Bactériacées (sensu stricto) et Spirillacées.

Haplobacterinae.

Coccaceae. — La cytologie des Coccacées a été à peine abordée jusqu'ici, mais ne diffère probablement pas beaucoup de celle des autres bactéries; d'après Růžicka⁵⁾, la différenciation interne se

¹⁾ R. Hertwig, Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902.

²⁾ F. Schaudinn, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen I. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902.

³⁾ A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena 1903.

⁴⁾ J. P. Lotsy, Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Bd. I: Algen und Pilze. Jena 1907.

⁵⁾ W. Růžicka, Über die biologische Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhaltes. Arch. f. Hygiene, Bd. XLVII. 1903.

réduirait à l'apparition de granules chromatiques au moment de la formation des cloisons.

A l'aide d'une technique nouvelle dont il dit le plus grand bien [coloration vitale au bleu de méthylène polychrome, et régression à la glycérine pure]. E. Mencl¹⁾ a révélé l'existence d'un véritable noyau dans *Micrococcus butyricus*, *Sarcina rosea* et *S. lutea*. Ce noyau composé d'un gros granule chromatique entouré ou non d'une zone claire, se divise toujours avant le corps cellulaire, par une sorte d' amitose en biseau.

Bacteriaceae. — Les Bactériacées proprement dites comprennent la plupart des formes produisant des spores endogènes; elles ont été l'objet d'un labeur énorme dont les résultats, naguère très discordants, commencent à s'harmoniser, grâce à un louable effort d'entente, et à d'heureuses concessions réciproques.

Les divergences d'opinion proviennent de causes multiples, qui ont trop souvent dérouté les observateurs les plus sincères et les plus expérimentés.

On sait aujourd'hui, avec Guilliermond²⁾, que la structure de la cellule bactérienne n'est pas invariable dans une même espèce; elle se modifie avec l'âge de la cellule, et, pour ainsi dire, avec l'âge de la culture. Il est donc nécessaire de suivre pas à pas l'évolution cytologique, d'analyser la structure pendant tout le cycle du développement, depuis la germination de la spore par exemple, jusqu'à la sporulation prochaine.

Il convient aussi, avec Mencl³⁾, de tenir compte de la plasticité considérable de l'organisme bactérien, aussi variable dans sa forme que dans sa structure suivant les conditions d'existence, soit dans le milieu normal, soit dans les milieux de culture artificiels.

Enfin Swellengrebel⁴⁾ pense que la structure fondamentale des Bactéries n'est pas rigoureusement uniforme; il y aurait un certain nombre de types d'organisation essentiels, reliés entre eux par des transitions ménagées.

L'absence totale de noyau ou de tout équivalent nucléaire ne rencontre plus beaucoup de partisans. Cette opinion extrême, défendue autrefois par Alfred Fischer, Migula et Massart, n'a guère aujourd'hui qu'une valeur historique.

¹⁾ E. Mencl, Über den Kern und seine Teilung bei Sarcinen und Micrococcus ochraceus (butyricus). Arch. f. Protistenk., Bd. XIX. 1910.

²⁾ A. Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908. — A propos de la structure des Bacilles endosporés. Ibid., Bd. XIX. 1910.

³⁾ E. Mencl, Die Bakterienkerne und die „cloisons transversales“ Guilliermond's. Arch. f. Protistenk., Bd. XVI. 1909.

⁴⁾ Swellengrebel, Untersuchungen über die Cytologie einiger Fadenbakterien. Arch. f. Hygiene, Bd. LXX. 1909.

Pour la grosse majorité des cytologistes contemporains, le protoplasma vivant, limité par la membrane d'une bactérie quelconque, présente une différenciation plus ou moins avancée; elle se traduit par la coexistence d'une certaine quantité de substance chromatique, avec une masse fondamentale ne répondant pas électivement aux réactions colorées caractéristiques de la chromatine nucléaire.

Il est probable que cette différenciation n'est pas primitive, ni permanente; elle se manifeste plus ou moins rapidement, à partir d'un certain stade du développement. La structure initiale, réalisée par exemple à l'issue de la germination de la spore, offre une apparence beaucoup plus simple.

Dans *Bacillus radicosus*, *B. mycoides*, etc., étudiés par Guilliermond¹⁾, les bâtonnets issus de la spore, paraissent formés d'une membrane épaissie aux extrémités, et d'un cytoplasme dense, homogène, très colorable, parfois creusé d'une petite vacuole centrale. Les cellules se divisent activement, et on peut y étudier avec une aisance particulière le mécanisme, probablement général, de la formation des cloisons transversales. Vers le milieu de la cellule apparaissent un ou deux granules très colorables, qui s'étalent et se soudent à la membrane périphérique pour constituer une cloison transverse, d'épaisseur variable, et bientôt dédoublée.

Ces observations, conformes aux données antérieures de Schaudinn, ont conduit Guilliermond à attribuer la même signification à diverses figures interprétées par leurs auteurs comme représentant de véritables noyaux ou des stades de mitoses.

Le même procédé de cloisonnement paraît avoir été figuré, sinon décrit par Amato²⁾, dans le Bacille de la Pomme de terre, et quelques autres espèces. Amato admet en effet l'existence d'un vrai noyau central, volumineux, mais éphémère, qui pourrait bien être simplement un granule chromatique amorçant le développement d'une cloison transverse.

Em. Mencl³⁾, dont les observations avaient été interprétées de la même manière par Guilliermond, conteste énergiquement le bien-fondé de ces critiques; il persiste à affirmer la coexistence indépendante du noyau et des granules chromatiques précurseurs des cloisons transversales.

Mais Ad. Ambrož⁴⁾, dont les idées générales sont bien différentes

¹⁾ Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908.

²⁾ A. Amato, Über die feine Struktur der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLVIII. 1908.

³⁾ E. Mencl, Die Bakterienkerne und die „cloisons transversales“ Guilliermonds. Arch. f. Protistenk., Bd. XVI. 1909.

⁴⁾ Ad. Ambrož, Entwicklungscyklus des Bacillus nitri, sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. usw., I. Abt., Originale, Bd. LI. 1909.

de celles de Guilliermond, arrive pourtant à des conclusions identiques sur ce point particulier. Dans *Bacillus nitri*, les individus jeunes, issus de spores, ont une apparence homogène, et se colorent d'une manière uniforme; dans la région médiane se différencient un ou deux granules très colorables, bientôt étalés et soudés entre eux pour l'édification de la cloison.

L'homogénéité de structure initiale, constatée par Guilliermond, Ambrož, etc., est temporaire et ne se maintient en général que pendant quelques heures à l'issue de la germination.

Dans les cultures plus âgées, les bacilles changent d'aspect, et l'organisation devient plus complexe. La masse fondamentale s'évide de nombreuses vacuoles, et prend une structure alvéolaire plus ou moins typique.

Une séparation ou une élaboration moléculaire différencie nettement les constituants chromatiques et achromatiques du corps de la bactérie. Les traitements microchimiques permettent alors de révéler un des types de structure les plus fréquemment signalés par les auteurs: masse plasmique alvéolaire fondamentale et granules différenciés plus ou moins nombreux, disséminés sur les cordons du réticulum alvéolaire, et présentant les réactions colorées caractéristiques de la chromatine. C'est la structure rencontrée pour la première fois par Schaudinn¹⁾ dans *B. Bütschlii*, et devenue, dans son interprétation, le premier exemple concret de la structure chromidiale pressentie chez les Bactéries par R. Hertwig.²⁾

Si l'on admet que les granules chromatiques sont capables d'augmenter de volume, de s'agglomérer, d'entrer en rapport de contiguïté ou de continuité, on est en mesure de comprendre les dispositions innombrables décrites et figurées dans ces derniers temps par Swellengrebel, Guilliermond, Dobell, Fantham et Porter, etc.

Toutes les transitions existent entre la répartition diffuse de la chromatine et la concentration plus ou moins avancée des granules, en traînées ou cordons indépendants ou associés en réseau à larges mailles. Ailleurs, les bandes chromatiques, orientées obliquement, traversent la cellule à l'état de ruban sinueux, en zigzag ou en spirale irrégulière. A la limite, les sinuosités s'atténuent et tendent à s'effacer; la constitution granuleuse devient moins apparente, et le filament chromatique axial, presque linéaire, ne laisse plus entrevoir aucune solution de continuité. On peut passer ainsi de la structure en chromidium diffus, à celle d'un filament nucléaire continu que sa forme presque seule empêche d'identifier avec un véritable noyau.

¹⁾ F. Schaudinn, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus Bütschlii*. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902.

²⁾ R. Hertwig, Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902.

Seulement, si les figures données par les auteurs présentent une concordance remarquable, témoignage d'exactitude et de sincérité, malgré la diversité des techniques, il est loin d'en être ainsi de leurs interprétations.

Guilliermond¹⁾, Dobell²⁾, Fantham et Porter³⁾, attribuent comme Schaudinn, aux bacilles endospores, un „diffuse nucleus“, sous la forme d'un système chromidial plus ou moins condensé suivant les espèces et les étapes du développement.

Swellengrebel⁴⁾, naguère partisan de la théorie chromidiale, soutient aujourd'hui une opinion différente. A son avis, les Bactéries ne contiennent que du cytoplasme et des granules de chromatine, sans nucléoplasme; les granules ne doivent donc pas être identifiés avec les véritables chromidies, élaborées dans un nucléoplasme et rejetées ensuite dans le cytoplasme.

Il se rallie ainsi à l'opinion de Goldschmidt⁵⁾ qui estimait devoir laisser les Bactéries en dehors de la question du chromidium. Pour Swellengrebel, les bactéries ne possèdent pas de noyau; elles contiennent seulement, avec les granules de chromatine, un protoplasme primitif non démembré en cyto- et nucléo-plasma, c'est à dire une sorte d'amphiplasma.

Partant d'une idée analogue, Růžicka⁶⁾ et Ambrož⁷⁾ arrivent à une conclusion entièrement différente. Ils trouvent, dans leurs préparations de *B. nitri*, des images représentant un réticulum alvéolaire à mailles variables, dont les nœuds sont occupés par des granules de chromatine; mais il ne saurait être question d'un chromidium inclus dans un cytoplasme; le corps tout entier du bacille offre l'apparence et possède la valeur morphologique d'un noyau; il est l'équivalent exact, l'homologue du noyau des organismes supérieurs.

¹⁾ A. Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endospores. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908. — A propos de la structure des Bacilles endospores. Ibid., Bd. XIX. 1910.

²⁾ Cl. Dobell, Notes on some parasitic Protists. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LII. 1908. — On the so-called „Sexual“ method of Spore formation in the disporic Bacteria. Ibid., Vol. LIII. 1909.

³⁾ H. B. Fantham and Annie Porter, Bacillus arenicolae n. sp., a pathogenic Bacterium from the gut-epithelium of Arenicola caudata. Centralbl. f. Bakt. usw., I. Abt., Originale, Bd. LII. 1909.

⁴⁾ Swellengrebel, Untersuchungen über die Cytologie einiger Fadenbakterien. Arch. f. Hygiene, Bd. LXX. 1909.

⁵⁾ Goldschmidt, Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk., Bd. V p. 137. 1904.

⁶⁾ Růžicka, Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidenlehre. Centralbl. f. Bakt. usw., II. Abt., Bd. XXIII. 1909.

⁷⁾ A. d. Ambrož, Entwicklungscyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. usw., I. Abt., Originale, Bd. LI. 1909.

Parallèlement à ces travaux, une autre école cytologique a continué à défendre une conception différente de la cellule bactérienne.

Arthur Meyer¹⁾ affirme depuis longtemps que les bactéries possèdent de véritables noyaux, tantôt uniques, tantôt au nombre de 2 à 6, sous forme de corps chromatiques réguliers, très colorables: il les a récemment retrouvés dans la sporulation de *Bacillus Pastorianus*.

Son élève Carl Vahle²⁾ considère également comme noyaux certains corpuscules colorables au bleu de méthylène ou à la fuchsine, rencontrés par lui dans les cellules de *Bacillus oxalaticus* Kuntze.

A. Amato³⁾ s'est prononcé aussi dans le même sens; si les noyaux des Bactéries avaient toujours le volume considérable et la netteté qu'ils offrent dans ses dessins, la question serait probablement tranchée depuis longtemps.

Vejdovský avait figuré dans diverses bactéries (?) des noyaux typiques et des stades de mitose. Son élève Mencl⁴⁾ demeure partisan résolu de cette opinion et prétend la justifier par de nombreuses observations faites sur des bactéries proprement dites, et sur des formes filamenteuses libres du genre *Cladothrix*.

Cette dernière argumentation nous écarte sans doute de notre sujet actuel, mais, d'autre part, les deux théories principales — chromidium ou noyau — sont peut-être moins contradictoires qu'il ne paraît a priori. L'étude de la sporulation nous fournira bientôt l'occasion de discerner entre elles des points de contact et des éléments de conciliation.

Un mot encore, auparavant, sur l'organisation végétative des bactéries. D'innombrables difficultés ont été la conséquence d'erreurs accidentelles et de confusions commises entre les granules chromatiques et les autres inclusions figurées de la cellule bactérienne.

Les plus répandues, et les plus importantes de ces inclusions sont les corpuscules métachromatiques. Ils ont été pour la première fois identifiés d'une manière rigoureuse par Babès, dont la priorité, énergiquement soutenue par Guilliermond⁵⁾ paraît indiscutable.

¹⁾ A. Meyer, Der Zellkern der Bakterien. Flora, Bd. XCVIII. 1908.

²⁾ C. Vahle, Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazen und Bakteriazen, sowie die Rhodobakteriazen und Spirillazeen. Centralbl. f. Bakt. usw., II. Abt., Bd. XXV. 1909.

³⁾ A. Amato, Über die feine Struktur der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLVIII. 1908.

⁴⁾ E. Mencl, Die Bakterienkerne und die „cloisons transversales“ Guilliermond's. Arch. f. Protistenk., Bd. XVI. 1909.

⁵⁾ Guilliermond fait entendre une protestation parfaitement légitime contre certaines remarques présentées ici même (Progressus rei botanicae, Bd. III p. 220) par E. Zacharias; Guilliermond paraît y être rendu responsable des difficultés provoquées par l'introduction inutile de mots nouveaux. Cf. Guilliermond in Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXVI, 1910, p. 580 en note.

Ils ont été ensuite confondus avec d'autres éléments, sous le nom de „grains rouges“ de Bütschli. Enfin Arthur Meyer¹⁾ s'est livré à une enquête approfondie sur leur distribution chez les organismes inférieurs; il a réuni un ensemble important de données précises sur leur composition chimique, et sur la technique applicable à leur identification. Il les considère comme une combinaison phosphorée d'acides nucléiques avec des principes basiques encore inconnus. Ce sont probablement des matières de réserve, et, d'après Reichenow²⁾, des réserves spéciales de substances nucléaires. Le nom de métachromatine, récemment employé par Fantham et Porter³⁾, aurait le double avantage de sauvegarder une priorité légitime, et d'exprimer, mieux que tout autre, les qualités et aptitudes caractéristiques de ces inclusions cellulaires.

Sporulation. On doit à Schaudinn⁴⁾, la première analyse cytologique de ce phénomène. Sa description, concernant la sporulation de *B. Bütschlii*, le plus volumineux bacille connu, fut un véritable événement scientifique, en raison de la nouveauté inattendue des particularités révélées par Schaudinn.

Nous aborderons plus loin la discussion de certains faits remarquables, antérieurs à l'individualisation des endospores; rappelons seulement, pour l'instant, que *B. Bütschlii* est une bactérie bisporique, produisant une spore au voisinage de chaque extrémité de la cellule. A cet effet, une partie des granules chromatiques, auparavant disposés en une spirale sinueuse, paraissent circuler suivant l'axe cellulaire pour se concentrer vers les deux pôles. Les granules se condensent ensuite en un grain chromatique arrondi, ayant l'apparence, et, pour Schaudinn, la valeur morphologique d'un noyau. Ce noyau, issu de la transformation partielle d'un appareil chromidial, serait transitoire. A la germination il a déjà cessé d'exister morphologiquement, et la cellule jeune ne contient qu'un chromidium plus ou moins diffus.

Un mécanisme analogue a été constaté par tous les cytologistes qui ont pu étudier la sporulation dans des bactéries à structure chromidiale ou susceptible d'être ainsi interprétée.

¹⁾ A. Meyer, Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Zeitg., B. LXII. 1904.

²⁾ E. Reichenow, Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXXIII. 1909.

³⁾ H. B. Fantham and Annie Porter, Bacillus arenicolae n. sp. a pathogenic Bacterium . . . etc. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. LII. 1909.

⁴⁾ F. Schaudinn, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus Bütschlii. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902.

Guilliermond¹⁾ a vu l'ébauche de la spore apparaître à l'un des pôles de la cellule de *B. radicosus*, *B. mycoides*, etc., comme un petit granule visible sur le vivant sous forme de vacuole. Il fixe énergiquement les réactifs de la chromatine, et présente tous les caractères d'un noyau. Plus tard il s'entoure d'une membrane dont l'épaississement progressif finit par mettre obstacle à la pénétration des colorants.

Cette diminution de colorabilité, constatée par la majorité des auteurs, est généralement attribuée à l'imperméabilité de la membrane. Cl. Dobell²⁾ se range à cet avis, à l'occasion de la maturation des spores de *B. flexilis* et *B. spirogyra*.

Fantham et Porter³⁾ signalent aussi une migration de granules chromatiques vers l'extrémité fertile de la cellule; l'ébauche de spore grossit, mais sa colorabilité diminue et s'annule au moment de la maturité.

D'après Amato⁴⁾, on peut encore distinguer, vers le centre de la spore presque mûre, un corpuscule arrondi colorable qui disparaît tardivement, mais se reconstitue (?) au moment de la germination.

Ambrož⁵⁾ a constaté le même phénomène dans la sporulation de *B. natri*, et y voit un motif de contester la doctrine de l'imperméabilité de la membrane. A son avis, le contenu de la spore en voie de maturation perd les propriétés microchimiques de la chromatine pour prendre celles de la plastine; „la spore mûre ne contient aucune chromatine“, avait déjà dit son maître Růžička.⁶⁾

Il régné encore quelque obscurité sur le mécanisme de la sporulation. Ambrož observe avec raison que les descriptions des auteurs sont trop brèves, ou manquent de netteté; l'origine et la constitution de la membrane sporale, la participation plus ou moins immédiate du cytoplasme dans l'édification du contenu, etc., sont autant de problèmes difficiles qui attendent encore une solution.

La vraie nature de la sporulation elle-même a paru élucidée le

¹⁾ A. Guilliermond, Contribution à l'étude des Bacilles endospores. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908.

²⁾ Cl. Dobell, Notes on some parasitic Protists. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LII. 1908. — On the so-called „Sexual“ Method of Spore formation in the disporic Bacteria. Ibid., Vol. LIII. 1909.

³⁾ H. B. Fantham and Annie Porter, Bacillus arenicolae n. sp., a pathogenic Bacterium . . . etc. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. LII. 1909.

⁴⁾ A. Amato, Über die feine Struktur der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLVIII. 1908.

⁵⁾ A. d. Ambrož, Entwicklungscyklus des Bacillus natri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. LI. 1909.

⁶⁾ V. Růžička, Die Cytologie der sporenbildenden Bakterien und ihr Verhältnis zur Chromidienlehre. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXIII. 1909.

jour où Schaudinn¹⁾ a montré ses relations avec une sexualité primitive dans *B. Bütschlii* et *B. sporonema*.

On sait que, dans *B. Bütschlii* par exemple, la bactérie qui va sporuler ébauche une bipartition cellulaire; mais le phénomène s'arrête bientôt, et toute trace de séparation s'efface. Des courants intracellulaires actifs déterminent une sorte de brassage et mélangent le contenu des deux moitiés de la bactérie; ensuite une spore se forme vers chaque extrémité, comme nous l'avons déjà décrit. D'après Schaudinn, on se trouve en présence d'un acte de sexualité régressive; c'est une véritable fusion sexuelle entre deux cellules sœurs imparfaitement individualisées; c'est donc aussi un fait d'autogamie, différant toutefois de l'autogamie normale par l'avortement partiel de la bipartition préalable.

Dans une discussion récente sur le même phénomène, Swarczewsky²⁾ a cru devoir lui donner le nom de chromidiogamie, le considérant comme un type très primitif de sexualité, en rapport avec la structure spéciale de la cellule bactérienne. Mais Hartmann³⁾ conteste la légitimité de cette conception, et interprète les conjugaisons des bacilles de Schaudinn, comme des cas de Pédogamie comparables à ceux des Levures.

Les observations de Schaudinn sont demeurées longtemps isolées. En 1908, Cl. Dobell⁴⁾ pensa pouvoir les confirmer d'une manière décisive, par la découverte de la sporulation du *B. flexilis*. Dans cette espèce, en effet, la formation des spores débute également par une tentative de bipartition cellulaire bientôt avortée, suivie de la formation de deux spores placées, comme dans *B. Bütschlii*, aux deux pôles de la cellule fertile.

Quelques mois plus tard, Dobell revient sur le sujet, à l'occasion de l'achèvement de ses recherches relatives à la sporulation de *B. spirogyra*, trouvé, comme le précédent, dans le canal digestif des Anoures.

Ici la sporulation est toujours solidaire d'une bipartition; mais la chronologie des deux phénomènes offre une grande diversité. Au lieu de toujours rétrograder, la bipartition s'achève aussi souvent, et

¹⁾ F. Schaudinn, Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus Bütschlii. Arch. f. Protistenk., Bd. I. 1902. — Beiträge usw. II. Bacillus sporonema. Ibid., Bd. II. 1903.

²⁾ Swarczewsky, Über die Fortpflanzungserscheinungen bei Arcella vulgaris. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908.

³⁾ M. Hartmann, Autogamie bei Protisten und ihre Bedeutung für das Befruchtungsproblem. Jena 1909.

⁴⁾ Cl. Dobell, Notes on some parasitic Protists. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LII. 1908. — On the so-called „Sexual“ Method of Spore formation in the sporadic Bakteria. Ibid., Vol. LIII. 1909.

les spores se forment isolément dans les cellules filles plus courtes que la cellule-mère.

La sporulation normale serait plus ou moins subordonnée à une dernière bipartition cellulaire. Dans quelques cas, la sporulation peut être assez hâtive pour s'amorcer pendant la bipartition elle-même; celle-ci peut s'arrêter prématurément, comme dans *B. Bütschlii*, ou s'achever beaucoup plus tard, comme dans *B. spirogyra*; en aucun cas, par conséquent, il ne saurait être question de sexualité.¹⁾

En résumé, les efforts considérables réalisés dans ces dernières années ont déjà abouti à des résultats notables. Les Bactériacées proprement dites nous apparaissent comme un groupe assez homogène, dont la cohésion se traduit par l'uniformité de leur cytologie et de leur sporulation.

Affranchie de la conception démodée d'un „corps central“ au sens de Bütschli, la cytologie bactérienne modernisée n'a pas encore trouvé sa formule définitive.²⁾ Mais l'étude attentive, patiente et méthodique, du cycle individuel et de l'évolution des structures, permet de prévoir une entente prochaine entre champions du noyau et défenseurs du chromidium.

Spirillaceae. — La cytologie des Spirilles est inséparable de celle des bactéries.

Le *Spirillum volutans* (= *Sp. giganteum*), très répandu dans les eaux douces corrompues, a été l'objet d'investigations approfondies. Il possède, d'après Swellengrebel³⁾ et Fuhrmann⁴⁾, un cytoplasme alvéolaire délimité par une membrane distincte dont la présence peut être aisément démontrée par la plasmolyse. Dans le cytoplasme Swellengrebel constate que la chromatine est surtout condensée à l'état de bandes transversales plus ou moins espacées, parfois obliques et associées en zigzag ou en réseau. Ce réseau chromatique ne doit pas être confondu avec le réticulum cytoplasmique auquel il est simplement superposé et dont il n'occupe qu'une partie.

Les corpuscules métachromatiques, si nombreux dans cette espèce (grains de Volutine) sont souvent localisés dans les nœuds du réseau chromatique dont ils représentent peut-être une émanation.

Swellengrebel décrit aussi la bipartition cellulaire, toujours transversale, et conforme, dans ses grandes lignes, à celle des

¹⁾ Cl. Dobell réserve les cas de *B. binucleatum* Swellengrebel, et de *B. sporonema* Schaudinn, qui ne sont peut-être pas des Bactéries, et réclameraient, sans doute, de nouvelles recherches.

²⁾ Voir Swellengrebel, Arch. f. Hygiene, Bd. LXX, 1909, p. 381.

³⁾ Swellengrebel, Vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochäten. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XLIX. 1909.

⁴⁾ F. Fuhrmann, Die Geißeln von *Spirillum volutans*. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXV. 1909.

Bactériacées. Elle débute par une agglomération médiane de substance colorable, indice d'une ébauche de cloison. Bientôt la cellule s'étrangle et s'étire à ce niveau; la masse colorable se clive, mais se retrouve après la rupture de la membrane distendue, sous la forme de deux callosités colorables (calottes polaires) comparables à celles des bactéries.

Les Spirilles vivants paraissent avoir un seul flagelle dirigé en arrière, mais Fuhrmann et K. Reichert¹⁾ ont constaté qu'il s'agit d'une gerbe d'une vingtaine de flagelles de longueur inégale, coalescents par simple adhérence (?). Dans la locomotion rétrograde, le flagelle complexe s'applique le long du corps et paraît alors inséré à l'extrémité opposée.

Le faisceau flagellaire semble tirer son origine d'un granule chromatique plus ou moins différencié, noyé dans une masse plasmatiche colorable. Cette structure, décrite par Reichert et par Fuhrmann n'est probablement pas sans rapports avec les calottes polaires de Swellengrebel. Un dispositif analogue (rhizoplaste) a été constaté par Dangeard²⁾ dans *Chromatium Okenii*.

Le genre *Spirochaete* a été créé en 1838 par Ehrenberg et incorporé dans les Bactériacées à côté des Spirilles dont il diffère surtout par son mode de locomotion.

A plusieurs reprises, la critique scientifique avait dû s'occuper de ces êtres remarquables; mais expériences et spéculations avaient seulement conduit à des résultats incertains et à des formules assez vagues, lorsque Schaudinn³⁾, dans un mémoire retentissant, posa, d'une manière formelle, le postulat des affinités immédiates des Spirochètes et des Trypanosomes.

Désormais la question passait au premier plan de l'actualité; une bibliographie énorme⁴⁾ s'est accumulée, sans apporter, semble-t-il, une réponse définitive à la question controversée de la situation systématique et des affinités de ces organismes.⁵⁾

¹⁾ K. Reichert, Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. LI. 1909.

²⁾ P. A. Dangeard, Note sur la structure d'une Bactériacée, le *Chromatium Okenii*. Bull. soc. bot. France, T. LVI. 1909.

³⁾ F. Schaudinn, Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete*. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XX. 1904.

⁴⁾ Une bibliographie très complète se trouve dans les deux mémoires suivants. Krzystalowicz et Siedlecki, Etudes expérimentales de la Syphilis. Morphologie de *Spirochaete pallida*. Bull. Acad. Sciences Cracovie. 1908. — C. Schellack, Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochäten aus Muscheln. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXX. 1909.

⁵⁾ Hartmann und Jollos, Die Flagellatenordnung Binucleata. Arch. f. Protistenk., Bd. XIX. 1910.

La thèse un moment soutenue par Schaudinn a été reprise et présentée sous diverses formes par d'éminents zoologistes, médecins et bactériologistes.

Les éléments essentiels de la discussion portent sur la constitution même du corps des Spirochètes, sur la nature de leur appareil locomoteur, sur leur mode de multiplication végétative, sur l'existence d'un polymorphisme sexuel, etc.

Les recherches récentes sur les grands Spirochètes des Mollusques, *Spirochaeta Balbianii*, *Sp. Anodontae*, *Sp. Pinnae*, etc., ont fourni des résultats remarquables que nous allons résumer brièvement.

Le corps des Spirochètes comprend un ectoplasme et un endoplasme. L'ectoplasme paraît être différencié en vue de la locomotion et contient des fibrilles contractiles (myonèmes) longitudinales; il constitue ainsi une sorte de périplaste plus ou moins analogue à celui des Flagellés.

La possibilité de la plasmolyse, niée par Fantham¹⁾ et par Gonder²⁾, a été démontrée par Swellengrebel³⁾ et par Schellack⁴⁾, et témoigne de l'existence d'une membrane comparable à celle des Spirilles et des Bactéries.

L'endoplasme est creusé d'une rangée unique de vacuoles axiles séparées par des bandes transversales de cytoplasme. Ces bandes contiennent des rubans ou cordons chromatiques, parallèles ou obliques, tantôt isolés, tantôt plus ou moins associés en zigzag ou en spirale. Cette structure, constatée par Fantham, Schellack et Swellengrebel, est entièrement conforme à celle des Spirilles et des Bactéries.

La locomotion des Spirochètes est exclusivement déterminée par la contractilité générale du corps. Il n'existe normalement ni flagelles, ni membrane ondulante; tout ce qui a été décrit sous ces noms, chez les grands Spirochètes du moins, semble reposer sur des erreurs d'interprétation, ou sur des observations défectueuses. D'après Schellack, auquel nous devons cette constatation inattendue, les grands Spirochètes en parfaite vitalité ont un corps régulièrement cylindrique. Mais le périplaste, avec ses fibrilles, représente une gaine élastique, tendue, adhérant faiblement à l'endoplasme. Dès que l'organisme commence à souffrir, c'est à dire dès que les conditions de milieu

¹⁾ H. B. Fantham, *Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii* (Certes) and *Spirochaeta anodontae*. Quart. Journ. micros. Science, Vol. LII. 1908.

²⁾ R. Gonder, Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten, zugleich Beitrag usw. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

³⁾ Swellengrebel, Neuere Untersuchungen über die Cytologie der Spirillen und Spirochäten. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

⁴⁾ Schellack, Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochäten aus Muscheln. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXX. 1909.

ont cessé d'être normales, l'équilibre est rompu; le périplaste tend à se séparer; des décollements plus ou moins étendus se produisent. Les lambeaux de périplaste détachés du corps, repliés ou plissés en long, produisent les aspects tant de fois décrits, et figurés sous le nom de membrane ondulante.

Perrin¹⁾, Keysselitz²⁾ et Gonder³⁾ avaient même signalé la présence d'un granule chromatique aux extrémités du filament bordant la soit-disant membrane ondulante, et pouvant être assimilé à un blépharoplaste. Il s'agit seulement, d'après Schellack, de la condensation et de la colorabilité plus grande d'une sorte de callosité apicale (calotte polaire?) représentant le point de convergence et de fixation des fibrilles du périplaste.

Le mode de division des Spirochètes a donné lieu aux commentaires les plus variés. Beaucoup d'auteurs leur attribuent un mécanisme de fissuration longitudinale, mais sans exclure la possibilité de bipartition transversale; c'est l'opinion de Fantham⁴⁾, Gonder⁵⁾, Doflein⁶⁾ etc. Mais Swellengrebel⁷⁾ interprète les soit-disant figures de division longitudinale comme représentant des accollements ou des enroulements partiels. Schellack est encore plus explicite et n'admet chez les Spirochètes que le seul mode de division transversale. Cette division débute par un amincissement annulaire du périplaste qui s'interrompt dans la région médiane; puis il y a formation d'une cloison transversale colorable bientôt dédoublée comme chez les Bactéries. Il est d'ailleurs possible que les petits Spirochètes éprouvent, comme les Spirilles un étranglement et une elongation de la membrane, avant l'achèvement de la bipartition transversale.

Quelques biologistes ont signalé chez certains Spirochètes tels que *Sp. Balbianii*, *Sp. pallida* etc., un polymorphisme individuel qu'ils ont considéré comme l'expression d'une différenciation sexuelle. Gonder prétend même avoir vu la copulation. Doflein constate cependant

¹⁾ Perrin, Researches upon the life history of *Trypanosoma balbianii* (Certes). Arch. f. Protistenk., Bd. VII. 1906.

²⁾ Keisselitz, Über die undulierende Membran bei Trypanosomen und Spirochäten. Arch. f. Protistenk., Bd. X. 1907.

³⁾ R. Gonder, Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten, zugleich Beitrag usw. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

⁴⁾ H. B. Fantham, The Spirochaetes found in the crystalline style of *Tapes aureus* . . etc. Parasitology, Vol. II. 1910. — H. B. Fantham and A. Porter, The modes of division of *Spirochaete recurrentis* and *Sp. Duttoni* as observed in the living organisms. Proceed. roy. Soc. London, Vol. LXXXI. 1909.

⁵⁾ Gonder, 1909, l. c.

⁶⁾ Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.

⁷⁾ Swellengrebel, Neuere Untersuchungen über die Cytologie der Spirillen und Spirochäten. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

qu'il n'y a rien de bien établi de ce côté. Fantham¹⁾ n'a pu retrouver dans *Sp. Balbianii* aucune trace de dimorphisme sexuel ou de conjugaison. Schellack attribue le soit-disant polymorphisme à une confusion entre espèces distinctes.

La morphologie des Spirochètes paraît donc avoir déçu les espérances des zoologistes, acharnés à la poursuite d'arguments permettant de justifier l'incorporation de ces organismes parmi les Protozoaires; il n'est donc pas étonnant qu'ils éprouvent quelque embarras à caser leur recrue dans un milieu étranger. Krzystalłowicz et Siedlecki²⁾ avaient proposé de créer pour eux l'ordre des Spirilloflagellata parmi les Mastigophora (Flagellés). Hartmann³⁾, auquel se rallie Gonder⁴⁾, les constitue en Ordre spécial, en Appendice aux Binucleata (Trypanosomes etc.) dont ils se séparent surtout par la constitution du noyau. Fantham⁵⁾ envisage seulement la possibilité de créer une 5^e Classe de Protozoaires, mais se prononce contre l'urgence d'une telle création, en raison de l'imperfection de nos connaissances. Doflein⁶⁾ reconnaît implicitement la partie perdue; les Spirochètes (Proflagellata) sont seulement pour lui, parmi les organismes inférieurs monériens (plus simples que les Protozoaires), ceux qui se rapprochent le plus des Protozoaires, et particulièrement des Mastigophora (Flagellates).

Les véritables affinités des Spirochètes sont définitivement du côté des Schizophytes, auxquels les rattachent morphologie, cytologie, et évolution. Qu'ils aient des relations plus immédiates avec les Spirilles, comme le veut Swellengrebel⁷⁾, ou avec les *Spirulina* et *Glaucospira* (Cyanophycées), comme le suggère Schellack⁸⁾, cela est secondaire. Bactériacées et Cyanophycées ont trop de traits communs pour que l'existence de formes intermédiaires, douées d'affinités bilatérales, soit de nature à nous déconcerter.

¹⁾ H. B. Fantham, *Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii* (Certes) and *Spirochaeta Anodontae*. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LII. 1908.

²⁾ Krzystalłowicz et Siedlecki, *Etudes expérimentales de la Syphilis. Morphologie de Spirochaete pallida*. Bull. Acad. Sciences. Cracovie 1908.

³⁾ Hartmann, *Das System der Protozoen*. Arch. f. Protistenk., Bd. X. 1907.

⁴⁾ R. Gonder, *Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten, zugleich Beitrag usw.* Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

⁵⁾ H. B. Fantham, *Spirochaeta balbianii* (Certes) and *Spirochaeta Anodontae*. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LII. 1908.

⁶⁾ Doflein, *Lehrbuch der Protozoenkunde*. Jena 1909.

⁷⁾ Swellengrebel, *Neuere Untersuchungen über die Cytologie der Spirillen und Spirochäten*. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Originale, Bd. XLIX. 1909.

⁸⁾ Schellack, *Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochäten aus Muscheln*. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXX. 1909.

Trichobacterinae.

Les affinités morphologiques sont encore plus manifestes entre Trichobactérinées et Cyanophycées; les *Beggiatoa*, par exemple, pourraient être logiquement considérées comme des Oscillariées sans pigment assimilateur; mais les modalités spéciales de leur activité chimique (sécrétion de Soufre etc.) font plutôt pencher la balance du côté des Bactéries.

La cytologie des Trichobactérinées a été peu étudiée, mais ce qui a été vu témoigne d'une concordance parfaite avec les Haplobactérinées.

Déjà Hinze¹⁾, dans l'étude de *Beggiatoa mirabilis*, avait conclu à l'absence d'un corps central différencié au sens de Bütschli. Le cytoplasme est creusé de vacuoles séparées par des bandes plasmiques plus ou moins obliques. Ces bandes contiennent des corpuscules très colorables nommés par l'auteur grains de chromatine mais identifiés par lui avec les „grains rouges“ de Bütschli.

Les recherches récentes de Mencl²⁾ sur les *Cladothrix* et de Swellengrebel³⁾ sur *Sphaerotilus (Cladothrix) natans* et sur divers *Thiothrix*, leur ont permis de retrouver les types de structure de *Bacillus maximus* et *Spirillum giganteum*.

Certaines cellules contiennent une chromatine diffuse à l'état de granulations éparses, ou associées en un réticulum plus ou moins régulier. Ailleurs la chromatine est disposée en bandes transversales ou obliques, associées en zigzag ou en spirale; parfois enfin la condensation est plus complète, et la chromatine est groupée en un cordon axile plus ou moins sinueux, pouvant être assimilé à une sorte de noyau primitif sans membrane.

Le mécanisme du cloisonnement transversal est identique à celui des Bactéries. Au niveau de la future cloison apparaissent un ou deux granules chromatiques qui s'étalent en une membrane continue, bientôt dédoublée quand les cellules filles doivent se désarticuler.

Classification et affinités des Schizomycètes. Les résultats de l'investigation cytologique paraissent avoir établi l'homogénéité fondamentale de toute la série des Schizomycètes. Mais tous les problèmes sont loin d'être résolus.

¹⁾ G. Hinze, Untersuchungen über den Bau von *Beggiatoa mirabilis* Cohn. Wissensch. Meeresuntersuchungen, N. F., Abt. Kiel, Bd. VI. 1902.

²⁾ E. Mencl, Die Bakterienkerne und die „cloisons transversales“ Guilliermond's. Arch. f. Protistenk., Bd. XVI. 1909.

³⁾ Swellengrebel, Untersuchungen über die Cytologie einiger Fadenbakterien. Arch. f. Hygiene, Bd. LXX. 1909.

La Classification elle-même, le groupement méthodique des Bactéries, fondé avant tout sur la forme extérieure, n'a qu'une valeur empirique. Des tentatives plus ou moins heureuses ont été faites, à plusieurs reprises, pour lui substituer une disposition systématique plus rationnelle, fondée sur une appréciation plus exacte des véritables affinités morphologiques et biologiques. Le système récemment proposé par Orla Jensen¹⁾, le plus complet et le plus original, mérite de retenir un instant notre attention.

L'auteur danois pose d'abord en principe que les Bactéries sont particulièrement caractérisées par leurs aptitudes biologiques: celles-ci doivent dès lors fournir la base de la Classification. D'autre part, une classification naturelle doit être l'expression des affinités phylogénétiques; les formes primitives, chronologiquement les plus anciennes doivent être celles dont les exigences physiologiques sont les plus faciles à satisfaire. Les Bactéries les plus voisines de la souche primitive du monde vivant seront, par suite, des espèces autotrophes, à grand rendement énergétique, telles que *Bacillus methanicus*, *B. oligo-carbophilus*, etc., c'est à dire des bactéries oxydantes, capables de consommer exclusivement les matières minérales les plus simples.

Au contraire, les bactéries lactiques, les espèces pathogènes de l'homme et des Mammifères, etc., doivent être chronologiquement les plus récentes, comme ces animaux eux-mêmes, et par conséquent très éloignées de la souche originelle, malgré la simplicité de leur forme et l'exiguïté de leurs dimensions.

Il n'y a pas lieu de discuter ici tous les détails de l'arbre généalogique dressé par Jensen. Parmi les particularités les plus intéressantes, signalons le rapprochement immédiat de toutes les Sulfo-bactéries avec les Trichobactéries et les Spirochètes, comme rameaux voisins d'une même branche directement issue du tronc primitif (Oxydobactériacées). Ainsi se trouvent étroitement groupées toutes les formes normalement filamenteuses (mono-ou pluricellulaires), *Cladothrix*, *Beggiatoa*, *Spirochacte*, dont on a souvent fait ressortir les affinités plus ou moins directes avec les Cyanophycées.

D'autre part Jensen attribue, avec justesse, aux Bactériacées la situation la plus inférieure, à la base du monde vivant actuel, dont les autres représentants les moins élevés, Protozoaires, Algues, Eumycètes, viennent tous converger vers ce noyau fondamental, comme maîtresses branches d'une souche commune.

Si les Bactériacées ne sont plus de véritables Monères, au sens de Haeckel, elles sont bien, comme l'ont pensé R. Hertwig et Doflein, les Protistes dont l'organisation s'en rapproche le plus, et

¹⁾ O. Jensen, Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXII. 1909. — Vorschlag zu einer neuen bakteriologischen Nomenklatur. Ibid., Bd. XXIV. 1909.

qui ont pu servir d'ancêtres à tous les autres êtres vivants; opinion bien moins paradoxale que celle d'une phylogénèse inverse, d'après laquelle les Bactériacées seraient issues de Flagellés primitifs ayant progressivement perdu leur forme extérieure, leur appareil locomoteur, et leur structure fondamentale.

Cyanophyceae.

(Schizophyceae.)

Les Cyanophycées nous fournissent peut-être le meilleur exemple de la légitimité et de l'utilité didactique de la notion morphologique de Protistes.

La nature végétale de ces organismes ne fait doute pour personne; leur identité de Thallophytes chromophylliens et assimilateurs est acceptée et reconnue par tous les biologistes. Cependant Oltmanns n'a pas voulu leur donner une place dans son monumental ouvrage sur les Algues; et s'ils figurent, à juste titre, dans l'Encyclopédie botanique d'Engler et Prantl, c'est à part, en dehors des Algues, dans un compartiment différent, où ils ont pour voisins les Bactéries, les Flagellés, les Diatomées, c'est à dire d'autres Protistes, rien que des Protistes.

L'organisation interne des Cyanophycées, caractère dominateur à l'égard des attributs morphologiques de forme et de dimension, leur impose une sorte d'isolement, une situation inférieure. D'autres organismes élémentaires, même des plus modestes, comme les Amibes, occupent déjà un rang plus élevé dans l'échelle de la perfection organique, grâce à la différenciation intérieure de leur cellule en deux termes caractéristiques, cytoplasme et noyau.

La cellule des Cyanophycées comprend, comme on sait, une région périphérique colorée et un „corps central“ incolore, mais ces deux parties ne sont séparées par aucune membrane. Dans certaines circonstances, les différenciations propres à chacune d'elles peuvent se propager dans l'autre, l'envahir plus ou moins, et réaliser ainsi l'uniformité de structure dans le corps cellulaire tout entier.

En dehors des divergences de vocabulaire, les biologistes sont généralement d'accord au sujet de la nature des différenciations localisées dans chaque région; mais les interprétations morphologiques relatives à l'ensemble de la cellule offrent plus de diversité.

A. Région périphérique. — La région périphérique contient habituellement le pigment assimilateur (chlorophylle + phycocyanine), et les granules de Cyanophycine.

La nature morphologique de la région colorée est vivement débattue entre les spécialistes, et ne semble pas définitivement résolue;

telle est, du moins, la conclusion formulée par E. Zacharias¹⁾ dans l'important Sammelreferat consacré par lui aux Cyanophycées en 1907. D'autre part Lotsy²⁾ a présenté avec une remarquable clarté l'ensemble des raisons qui militent en faveur des diverses opinions. Il suffira donc de constater que les mémoires récents sont généralement hostiles à la théorie d'Alfred Fischer, et contestent l'existence d'une différenciation intracellulaire spéciale répondant à la notion de chromatophore morphologiquement défini.

Pour Guilliermond³⁾ comme pour Gardner⁴⁾, la région colorée périphérique représente simplement le cytoplasme de la cellule. Il contient le pigment assimilateur, probablement à l'état de simple dissolution. Swellengrebel⁵⁾ déclare aussi que les cellules de *Calothrix fusca* ne possèdent pas de chromatophore; le réseau alvéolaire périphérique se continue sans interruption dans la partie centrale; la matière colorante peut même parfois diffuser dans toute la masse et colorer toute la cellule.

Les granules de Cyanophycine ne paraissent pas avoir une existence constante; ils se disposent en général le long des cloisons transversales. Leur nature chimique et leur destination sont inconnues. Pour Guilliermond, ils sont caractérisés par leur coloration bleue en présence de l'Hémalum; ils sont certainement identiques aux granules β de Gardner, colorés électivement par le Wasserblau dans la cellule vivante.

B. Corps central. — Question complexe, et d'une portée générale; Strasburger⁶⁾ l'a établi ici même, avec sa maîtrise ordinaire, en montrant que ce sujet touche aux problèmes les plus délicats de la morphologie cellulaire, par exemple à la question de l'existence et de l'autonomie de la substance nucléaire.

Le premier point litigieux concerne la constatation de la présence réelle d'une ou plusieurs substances répondant à la notion purement biochimique de chromatine, révélée soit par des réactions colorées électives, soit par des éléments caractéristiques de sa constitution moléculaire.

Dans le mémoire très étendu publié ici même par E. Zacharias⁷⁾,

¹⁾ E. Zacharias, Über die neuere Cyanophyceenliteratur. Bot. Zeitg. 1907.

²⁾ J. P. Lotsy, Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Erster Band. Algen und Pilze. Jena 1907.

³⁾ Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. Revue gén. de Bot., T. XVIII. 1906.

⁴⁾ N. L. Gardner, Cytological studies in Cyanophyceae. University of California publications, Botany, Vol. II. 1906.

⁵⁾ N. H. Swellengrebel, Note on the Cytology of *Calothrix fusca*. Quart. Journ. micr. Science, Vol. LIV. 1910.

⁶⁾ Progressus rei botanicae, Vol. I p. 112.

⁷⁾ Progressus rei botanicae, Vol. III.

sur la constitution chimique du protoplasme et du noyau, l'auteur reproduit textuellement l'argumentation de son Sammelreferat, au sujet des inclusions figurées connues sous le nom de „Centralkörnern“. Il ne paraît plus douteux, aujourd'hui, que ces granules sont bien identiques aux „grains rouges“ de Bütschli, aux „corpuscules métachromatiques“ de Babès, et aux „grains“ de „volutine“ d'Arthur Meyer. Désignés par Gardner sous le nom de granules α , ils ont une gamme de réactions microchimiques assez étendue et assez précise pour que leur identification ne se heurte plus à des difficultés insurmontables.

Des divergences d'appréciation peuvent encore surgir, il est vrai, de la comparaison de ces éléments avec les corps figurés analogues des autres séries systématiques, Bactéries, Levures, Flagellates, etc. On sait, d'autre part, que les résultats de l'investigation purement chimique sont favorables, d'après Zacharias, à l'hypothèse de l'existence des composés nucléiques acides dans l'édifice moléculaire de ces corpuscules.

Mais ces constatations n'ont rien de commun avec la question de la chromatine nucléaire; l'interprétation cytologique du corps central en demeure totalement indépendante.

Les quelques mémoires récemment produits sur ce sujet paraissent entièrement d'accord.

D'après Guilliermond, la partie médiane de la cellule, qui correspond au corps central, paraît formée d'un hyaloplasme contenant un réticulum fortement colorable; celui-ci rappelle tout à fait un réseau chromatique nucléaire; „nous le considérons comme tel“.

Gardner a distingué aussi avec soin, la masse fondamentale du corps central, et la chromatine. La répartition de cette dernière lui a permis de caractériser trois types de structure, dont le plus important est le type diffus, seul représenté dans les Cyanophycées filamenteuses. Il répond exactement à la disposition décrite par Guilliermond dans *Phormidium favosum*, où des préparations heureuses ont permis de voir les éléments constitutifs du réseau, formé d'une substance achromatique correspondant probablement à la linine, et de granulations chromatiques proprement dites; celles-ci paraissent généralement difficiles à différencier et ont probablement échappé à la plupart des observateurs.

Enfin Swellengrebel, décrivant le corps central de *Calothrix fusca*, constate la présence de granules chromatiques et de filaments; le réseau plasmique est plus colorable que le cytoplasma périphérique, ce qui semble indiquer une ébauche de différenciation nucléoplasmique.

Le système des cordons ou des rubans réticulés, colorés électivement par l'hématoxyline ferrique peut être considéré comme l'expression matérielle de l'individualité de la chromatine dans le corps central.

Mais il s'agit d'une simple condensation par affinité moléculaire; c'est une modalité particulière d'agrégation locale, sans valeur morphologique absolue; variable de cellule en cellule, elle demeure toujours susceptible de se modifier profondément au cours des étapes de la vie cellulaire.

Guilliermond, dans *Seytonema cincinnatum*, et Swellengrebel, dans *Calothrix fusca*, ont ainsi décrit un véritable démembrement du réseau chromatique interne, pulvérisé en quelque sorte, et disséminé dans la cellule entière, où disparaît alors la distinction du cytoplasme périphérique et du corps central.

Cependant rien n'autorise à nier, comme le fit Zacharias¹⁾, l'existence, dans le corps central, d'un équivalent chromatique du contenu des noyaux ordinaires: „namentlich fehlt den Centralkörpern der „chromatische“ Bestandteil der letzteren“ [id est der typischen Zellkerne].

Endigués par une technique rigoureuse, les travaux cytologiques récents ont seulement échappé aux exagérations évidentes de Kohl²⁾, Olive³⁾, ou Philipps⁴⁾, aussi bien qu'à la fantaisie paradoxale d'Alfred Fischer⁵⁾ (pseudomitoses d'Anabénine), à laquelle Lotsy semble s'être rallié sans enthousiasme.

Dans aucune période de la vie cellulaire d'une Cyanophycée, ne se manifeste l'autonomie fonctionnelle du segment chromatique individualisé à l'état de chromosome. Cette constatation suffit pour dissiper les contradictions et les invraisemblances soulevées par l'hypothèse d'une division mitotique du corps central.

Pour Guilliermond, il ne saurait être question de mitose proprement dite; tout au plus voit-on s'exercer une certaine tendance à l'orientation longitudinale d'une partie des bandelettes du réseau chromatique. Ensuite un simple étranglement transversal suffit pour diviser bientôt le réseau entier en deux réseaux fils.

Gardner affirme que la division du corps central est purement amitotique, et se réduit à un étranglement progressif de la périphérie au centre, sans aucune trace de fragmentation du réseau chromatique en un nombre quelconque, défini ou non, de chromosomes.

D'après Swellengrebel, le corps central se divise par simple rupture transversale et il n'y a aucune trace de chromosomes visibles.

¹⁾ E. Zacharias, Über die neuere Cyanophyceenliteratur. Bot. Zeitg. 1907, p. 286.

²⁾ Kohl, Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle usw. Jena 1903.

³⁾ Olive, Mitotic Division of the Nuclei of the Cyanophyceae. Beihefte zum bot. Centralbl., Bd. XVIII. 1904.

⁴⁾ Philipps, A Comparative Study of the Cytology and Movements of the Cyanophyceae. Contrib. from the Bot. Labor. Univ. Pennsylvania, Vol. II. 1904.

⁵⁾ A. Fischer, Die Zelle der Cyanophyceen. Bot. Zeitg. 1905.

Il considère cependant le corps central comme un nucleus primordial à nucléoplasme peu différencié, dont les limites peuvent même s'effacer; les granules chromatiques se dispersent alors dans toute la cellule. Ce stade ressemble beaucoup à celui des bactéries à granules chromatiques diffus, sans différenciation de plasma nucléaire; à cette occasion Swellengrebel rappelle ses propres observations sur *Sphaerotilus natans* et celles de Dobell sur *Bacillus spirogyra*, où les plasmas ne sont pas différenciés, mais où la chromatine peut se trouver centralisée comme dans *Calothrix fusca*.

Gardner attribue aussi au corps central le nom de nucleus, comme symbole de l'homologie des structures et des équivalences physiologiques, en dépit de la diversité des formes et des dimensions.

Le point de vue de Guilliermond est plus général encore, et plus conforme au courant d'idées établi depuis quelques années sous la pression des découvertes multiples réalisées dans le monde des Protistes.

Le corps central des Cyanophycées est, si l'on veut, une sorte de noyau sans membrane, mais affranchi des entraves mécaniques concomitantes d'une forme définie et d'un volume limité. C'est plutôt le siège privilégié d'un réseau chromatique intracellulaire, ou appareil chromidial, normalement localisé, mais capable de se dilater, ou de se condenser; susceptible de s'étendre, suivant les circonstances, jusqu'aux limites extrêmes du territoire cytoplasmique, ou de s'agglomérer en une pelote compacte, revêtant alors, à s'y méprendre, les apparences morphologiques d'un véritable noyau.

Tout cela ne nous dit pas grand-chose, évidemment, sur la phylogénie des Cyanophycées, dont l'origine demeure toujours énigmatique, mais nous autorise à penser que ces végétaux ont des affinités ancestrales sinon avec les Bactéries proprement dites (Haplobactérinées) du moins avec les Trichobactérinées telles que *Sphaerotilus* et *Beggiatoa*, véritables Cyanophycées incolores et saprophytes.

Le parallélisme morphologique des Bactériacées et des Cyanophycées a été depuis longtemps appuyé sur l'homologie de la structure interne; l'absence constante de noyau normal paraissait alors un trait d'organisation caractéristique pour les deux groupes; la disposition de la chromatine en appareil chromidial, révélée par la technique moderne, fournit un critérium cytologique positif, qui confirme les présomptions d'affinité des deux groupes, détermine leurs rapports et précise leur situation à l'égard des autres représentants du monde des Etres inférieurs. Bactériacées et Cyanophycées sont des Schizophytes, peut-être les seuls Schizophytes; ce sont probablement aussi les Protistes les plus inférieurs.

Appendice. — Pour nous conformer à la tradition nous dirons ici quelques mots des Chamaesiphonaceae, considérées jusqu'à présent comme une simple famille de Cyanophycées.

Gardner¹⁾ nous a fourni quelques renseignements cytologiques sur ce groupe intéressant, fortement individualisé et peut-être plus évolué que les Cyanophycées filamenteuses les plus volumineuses.

Les *Dermocarpa* étudiés par Gardner (*D. fucicola*, *D. prasina*), ont un réseau chromatique très étendu et régulier, avec granulations nodales plus colorables. Dans la cellule adulte, ce réseau se fragmente simultanément en un grand nombre de tronçons, dont chacun devient le centre d'un territoire cytoplasmique bientôt délimité par une membrane propre. Ce mode de multiplication par spores endogènes, connu depuis longtemps chez les Chamaesiphonées nous apparaît ainsi comme un véritable processus schizogonique, d'autant plus intéressant qu'il coïncide avec une structure chromidiale permanente, phénomène probablement très rare chez les Protistes.

Myxobacteriaceae.

L'individualité de ce groupe a été établie, comme on sait, par l'éminent mycologue américain Roland Thaxter, mais Lotsy²⁾ a le mérite d'avoir vulgarisé la connaissance de ces curieux organismes en leur attribuant pour la première fois une place suffisante dans un tableau d'ensemble du monde végétal.

Les Myxobactériacées comptent une trentaine d'espèces environ, réparties entre les trois genres *Myxococcus*, *Polyangium* et *Chondromyces*; les deux derniers diffèrent fort peu, et pourraient être, d'après A. Quehl³⁾, avantageusement réunis en un seul.

On sait aussi que le seul *Myxococcus* produit des „spores“ proprement dites, c'est à dire des corpuscules résultant d'une transformation complète des bâtonnets végétatifs; les „kystes“ reproducteurs des deux autres genres contiennent seulement des bâtonnets végétatifs raccourcis et renflés, mais sans modification assez profonde pour acquérir la valeur morphologique de véritables germes différenciés; la restauration de la forme bacillaire, au moment du réveil de la végétation, est alors un fait morphologique d'une simplicité élémentaire.

Il n'en est pas toujours ainsi de la germination des spores. Le mode de déhiscence décrit par Thaxter, avec perforation ou déchirure de la membrane, et évation du contenu, n'a été retrouvé

¹⁾ Gardner, Cytological Studies etc., I. c.

²⁾ Lotsy, Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Erster Band. Algen und Pilze. Jena 1907.

³⁾ A. Quehl, Untersuchungen über die Myxobakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XVI. 1906.

par aucun des naturalistes qui ont repris l'observation attentive des espèces de *Myxococcus*. E. Baur¹⁾ a obtenu seulement la germination par élongation et étirement de la spore, sans élimination de membrane. Ces observations ont été entièrement confirmées par A. Quehl et par C. Vahle²⁾; il paraît donc établi que ces spores se comportent comme les „pseudospores“ de *Sappinia* et de *Guttulinopsis*, et aussi comme les bâtonnets raccourcis des *Polyangium* et des *Chondromyces*.

La structure interne des bâtonnets végétatifs est mal connue, et paraît difficile à élucider, en raison de la ténuité de ces éléments dont la largeur demeure toujours voisine de 1 μ . E. Baur avait signalé la présence de granules intracytoplasmiques, très colorables à l'hématoxyline. C. Vahle a reconnu l'existence habituelle de réserves, sous forme de gouttes d'huile ou de sphérules de volutine; mais il a vu aussi de petits rubans chromophiles intérieurs, colorables à l'hématoxyline, souvent au nombre de deux vers la région médiane, et qui pourraient être des noyaux.

La multiplication végétative se produit toujours par une sorte de segmentation transversale, mais sans trace de cloisonnement; elle diffère donc profondément de celle des Bactéries. Thaxter avait déjà vu qu'elle débute par un étranglement médian; la zone étranglée s'allonge et s'effile de plus en plus, jusqu'à devenir imperceptible; les bâtonnets ne demeurent jamais (?) associés en filaments linéaires comme chez les Bactéries.

Malgré ces différences morphologiques, on croyait encore récemment à l'homologie des colonies myxobactériennes avec les zoogées des bactéries proprement dites. Thaxter avait admis l'existence d'une substance gélatineuse intercellulaire, et Baur attribuait à cette gelée, abondamment produite par les bâtonnets, une importance morphogénique prépondérante. Or Vahle n'a pu réussir à la mettre en évidence par aucun des procédés habituels de la microtechnique moderne; l'émulsion d'encre elle-même, révélateur fidèle des gelées extracellulaires, parvient toujours, sans obstacle apparent, jusqu'au contact immédiat de la membrane des bâtonnets. La membrane seule, par sa viscosité, assure aux éléments vivants juxtaposés une cohésion considérable, qui rend la dissociation très laborieuse, sinon impraticable.

L'existence de cette membrane n'a pu d'ailleurs être démontrée, ni microchimiquement, ni par plasmolyse. La zone superficielle ne se colore ni comme la cellulose ni comme la chitine; toutefois E. Baur ne doute pas de son existence et C. Vahle, partisan de la même

¹⁾ E. Baur, Myxobakterienstudien. Arch. f. Protistenk., Bd. V. 1904.

²⁾ C. Vahle, Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen, sowie die Rhodobakteriazeen und Spirillazeen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXV. 1909.

opinion, considère la membrane comme une „Hautschicht“ alloplasmique, analogue à la „pellicule“ de divers autres Protistes.

La discussion relative à la présence de la gelée intercellulaire présente une grande importance théorique, qui retentit sur l'interprétation morphologique des appareils reproducteurs, et sur les conceptions relatives à l'autonomie du groupe tout entier et de ses affinités systématiques.

Les éléments matériels du débat sont fournis surtout par le genre *Chondromyces*, dont les fructifications complexes se composent généralement d'un pédicelle stérile, le cystophore, et d'un certain nombre de „Kystes“ agglomérés autour de son sommet.

D'après Thaxter, le cystophore de *Chondromyces aurantiacus* s'édifie progressivement de bas en haut, comme un manchon cylindrique ou une colonne creuse, constituée par une sécrétion durcie; il sert de point d'appui pendant l'ascension des bâtonnets qui montent en essaims vers le sommet pour s'agglomérer en kystes reproducteurs.

Le développement de *Chondromyces apiculatus* a été suivi par Quehl; ici, la masse globuleuse des bâtonnets, préformée entièrement, s'élève peu à peu au dessus du substratum par l'élaboration ininterrompue d'une sécrétion membraneuse localisée dans sa région inférieure; cette sécrétion bientôt durcie et contractée constitue le cystophore cylindrique, plus ou moins ridé et sillonné.

Dans ses observations microscopiques et microchimiques du cystophore de *Chondromyces crocatus*, C. Vahle retrouve sous la surface ridée la masse d'aspect homogène et peu colorable signalée par Quehl, mais son interprétation est différente. A son avis, la gélatine interstitielle est absente, ou réduite à un minimum. La partie essentielle du cystophore est composée de cordons de bâtonnets arrêtés dans leur ascension; immobilisés et agglutinés, ils sont réduits au rôle d'éléments de soutien, mais contribuent cependant par cette collaboration passive, issue de la division du travail, à assurer la conservation et la dissémination de l'espèce dans le milieu ambiant.

Vahle mentionne les avantages techniques d'une macération ménagée combinée avec une coloration convenablement graduée. Sa méthode consiste à soumettre les appareils jeunes, en voie de développement, ou récemment formés, à l'action désorganissante de l'Eau de Javelle. Au bout de peu de temps, l'agglomération est désagrégée, et des coulées de bâtonnets se produisent par toutes les fissures. En remplaçant le réactif par l'alcool à 95° on arrête à volonté la dislocation; l'adjonction de bleu de méthylène en solution étendue permet d'obtenir dans le cystophore une coloration des bâtonnets aussi évidente que dans les kystes.

Zederbauer¹⁾ est arrivé à un résultat analogue, quoique moins complet, en observant la gélification spontanée des fructifications de la même espèce en chambre humide; il a vu le cystophore se transformer en un pinceau de filaments grêles et incolores; mais fidèle à la théorie symbiotique préconisée par lui en 1903, il considère ces filaments comme les hyphes d'un champignon associé à une bactérie; le *Ch. crocatus* serait une „Spaltpilzflechte“. Son jugement actuel est, d'ailleurs, moins absolu qu'en 1903. D'après lui, on a décrit, sous le nom de Myxobactériacées trois catégories, au moins, d'organismes, n'ayant entre eux aucune affinité réelle; les uns sont des Lichens bactériens (Spaltpilzflechten), comme *Ch. crocatus* et *Coryne sarcoides*; d'autres sont de véritables Bactériacées, comme *Myxococcus rubescens*; d'autres enfin correspondent bien à la notion de Myxobactéries au sens de Thaxter.

Les affinités systématiques des Myxobactériacées sont très obscures; d'après E. Baur, défenseur résolu de la théorie classique, introduite par Thaxter, le critérium essentiel est fourni par l'organisation et la biologie des bâtonnets végétatifs, conformés et segmentés comme des bactéries, dépourvus de véritables noyaux, doués d'une mobilité analogue à celle des Oscillaires; leur place est donc marquée dans le monde des Schizophytes, non loin des Bactériacées proprement dites.

Pour C. Vahle, au contraire, l'argumentation fondée sur la structure cytologique n'aurait pas de portée décisive. Le mode de végétation individuelle, l'association directe en colonies sans interposition de substance interstitielle, l'existence de fructifications complexes avec division du travail entre individualités élémentaires équivalentes, comme chez les *Dictyostelium*, la formation de germes indéhiscents, analogues aux „pseudospores“ de *Guttulinopsis* et de *Sappinia* — sont autant de raisons de séparer les Myxobactériacées des Schizophytes, et de les incorporer aux Myxomycètes (sensu latissimo), non loin des Acrasiés inférieurs.

Mycetozoa.

Il est difficile aujourd'hui de caractériser les Mycétozoaires. Les remarquables découvertes des dernières années ont largement accru le nombre des formes connues, et mis en évidence la diversité de leurs aptitudes.

¹⁾ E. Zederbauer, Spaltpilzflechten. Österreich. bot. Zeitschr., Jahrg. 1906 Nr. 5/6.

Purement systématique à l'origine, la notion de Mycétozoaire s'est assouplie et transformée pour s'adapter plutôt à l'expression de certaines modalités physiologiques. — Il y a maintenant beaucoup de Mycétozoaires, comme il y a beaucoup de Vers, de Lichens, etc.; nous qualifions ainsi certaines manières d'être, certains modes d'existence, sans avoir la prétention d'être mieux renseignés sur les affinités; les rapprochements établis possèdent peut-être la simple valeur d'une juxtaposition d'attente, dans des cadres provisoires.

On peut en dire autant du terme Myxomycète, dont l'élasticité soulage bien des doutes, mais qui n'a plus guère qu'une valeur historique.

Trois séries naturelles, Acrasiés, Plasmodiophoracées, Myxogastrées, se détachent, par leur individualité nettement tranchée, dans ce monde, un peu hétéroclite, des Mycétozoaires.

Acrasieae.

La monographie consciencieuse d'Edgar Olive¹⁾ constitue le premier effort réalisé dans le but de synthétiser les connaissances acquises sur ces organismes, dont l'histoire naturelle est encore à peine ébauchée.

Le mémoire récent de Pinoy²⁾ est une contribution d'autant plus importante que ses expériences ont été conduites sous le contrôle de la technique bactériologique la plus rigoureuse.

Pinoy paraît avoir établi, d'une manière définitive, le parasitisme symbiotique des Acrasiés. La méthode des cultures pures mixtes, où l'organisme étudié se développe en présence d'une bactérie parfaitement isolée, a donné des résultats d'une constance et d'une régularité automatiques, qui méritent probablement d'être généralisés et étendus à l'ensemble du groupe.

Les myxamibes des Acrasiés se nourrissent aux dépens de certaines colonies bactériennes; ils englobent les bactéries et les digèrent lentement dans leurs vacuoles, à l'aide d'une diastase spéciale, plus ou moins analogue à la trypsine. Rien ne s'oppose d'ailleurs, à la coexistence de ce mode d'alimentation, franchement parasitaire, avec une nutrition saprophytique plus ou moins active.

Les observations cytologiques de Pinoy, combinées avec celles d'Olive, nous permettent de tracer un tableau satisfaisant de l'enchaînement des phénomènes nucléaires dans l'évolution individuelle des Acrasiés.

¹⁾ E. Olive, Monograph of the Acrasieae. Proceed. Boston Soc. Nat. History, Vol. XXX. 1902.

²⁾ E. Pinoy, Rôle des bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. Thèse. Paris 1907.

A l'état de repos, la spore paraît posséder un seul noyau, réduit à un corpuscule chromatique central (karyosome), entouré d'une auréole claire.

Au moment de la germination, le corps protoplasmique nu, issu de la spore, ne montre plus de noyau colorable, mais un certain nombre de granulations chromatiques éparses, parfois associées en cordon spiralé figurant un spirème. Ce stade est suivi de la formation d'une sorte de plaque équatoriale bientôt dédoublée. Il s'agit donc d'une division mitotique de type inférieur, sans fuseau achromatique, linéine ou centrosomes. La période d'achèvement, mal élucidée, coïncide avec l'étranglement cytoplasmique qui réalise la première bipartition de l'amibe.

Alors commence l'évolution végétative proprement dite, caractérisée par la multiplication rapide des amibes; ce phénomène ne semble pas avoir de relation nécessaire avec la multiplication amitotique des noyaux ou avec la fragmentation des granules chromatiques épars dans le cytoplasme.

Le développement des fructifications ne paraît accompagné d'aucun phénomène nucléaire particulier.

La méthode des cultures a révélé encore à Pinoy les rapports de la coloration des appareils reproducteurs des Acrasiés, avec les sécrétions pigmentaires des bactéries associées. Les distinctions spécifiques, fondées sur la diversité des colorations, réclament une révision sévère. *Dictyostelium lacteum* Van Tieghem, *D. roseum* Van Tieghem, *D. roseum* Olive, *Guttulina rosea* Cienkowski, sont peut-être de simples variations biologiques déterminées par les réactions réciproques des organismes symbiotes et par les conditions de milieu.

Sous ces réserves, le groupe des Acrasiés constitue un ensemble assez homogène, dont les affinités avec les autres Mycétozoaires, en particulier avec les Myxogastres, sont probablement moins étroites qu'on ne le pensait naguère.

L'absence totale d'un stade flagellé, dont la valeur phylogénétique serait considérable, conduit à rechercher la souche des Acrasiés du côté des Rhizopodes inférieurs. Le trait-d'union serait fourni par les formes élémentaires, telles que *Sappinia* Dangeard¹⁾, dont la situation systématique n'est pas clairement établie.

Le *Sappinia pedata*, type du genre, n'est guère connu que par la description originale, dont l'insuffisance est soulignée par Lotsy²⁾ et par Doflein.³⁾ Par l'extrême simplicité de son organisation

¹⁾ P. A. Dangeard, Contribution à l'étude des Acrasiées. Le Botaniste, 5. Série. 1896.

²⁾ Lotsy, Vorträge . . . usw., 1907, p. 398.

³⁾ Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde, 1909, p. 587.

végétative et surtout par les modalités étranges de son évolution nucléaire, le *Sappinia* mérite de retenir l'attention des biologistes.

Il paraît bien établi qu'il n'existe aucune trace de sexualité chez les Acrasiés; cela est d'autant plus remarquable, que la sexualité a pu être constatée chez la plupart des organismes parasites considérés comme plus ou moins apparentés aux Acrasiés.

Il en est ainsi par exemple, pour divers Mycétozoaires (?) endoparasites récemment découverts dans les organes digestifs, excréteurs etc. des Invertébrés; les genres *Peltomyces*¹⁾, *Ophryomyces*²⁾, *Mycetosporidium*³⁾, *Chytridiopsis*⁴⁾ et *Sporomyxa*⁵⁾ sont les représentants les mieux caractérisés de cette famille (?) probablement très nombreuse.

Dans ces organismes, étudiés surtout par L. Léger et ses collaborateurs, a été décrit un cycle normal, plus ou moins complexe, de Protiste, conforme au schéma de Schaudinn; avec processus schizogoniques divers, assurant la propagation interne de l'infection, et sporogonie finale, favorisant la contagion par l'évacuation de spores durables, résistantes, plus ou moins nombreuses. A l'origine de la sporogonie, existe normalement une karyogamie sexuelle accompagnée de réduction chromatique, où l'on peut être tenté de voir l'indice d'une parenté plus directe avec les Plasmodiophoracées; Doflein se rallie à cette opinion. Mais un tel rapprochement, énergiquement combattu par Maire et Tison⁶⁾, ne pourrait être légitimé que par la découverte d'un stade flagellé dans l'évolution de ces parasites; on ne connaît malheureusement la germination des spores durables dans aucune espèce.

Plasmodiophoraceae.

Les travaux classiques de Woronin et de Nawaschin, complétés par les recherches cytologiques de Prowazek⁷⁾ semblaient avoir fourni les éléments définitifs de l'histoire naturelle de *Plasmo-*

¹⁾ L. Léger, Sur un Mycétozoaire nouveau, endoparasite des Insectes. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLIX. 1909.

²⁾ L. Léger et E. Hesse, Sur un nouvel endophyte parasite d'un Coléoptère. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLIX. 1909.

³⁾ L. Léger et E. Hesse, Sur un nouveau protiste parasite des Otorhynques. Annales Univ. Grenoble, T. XVII. 1905.

⁴⁾ L. Léger et O. Duboseq, Sur les Chytridiopsis et leur évolution. Arch. Zool. exp. et gén., 5. Sér., T. I. 1909.

⁵⁾ L. Léger, Mycétozoaires endoparasites des Insectes. I. *Sporomyxa scauri* nov. gen. nov. spec. Arch. f. Protistenk., Bd. XII. 1908.

⁶⁾ R. Maire et A. Tison, La cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae. Annales Mycologici, Vol. VII. 1909.

⁷⁾ Prowazek, Über den Erreger der Kohlhernie, Plasmodiophora Brassicae, und die Einschlüsse in den Carcinomzellen. Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheits-amte, Vol. XXII. 1905.

diophora brassicae, représentant le plus célèbre de la famille des Plasmodiophoracées; un important mémoire de Maire et Tison¹⁾ est récemment venu tout remettre en question.

Disons tout d'abord que ces auteurs ont clairement établi, avec une remarquable sûreté d'argumentation, l'incontestable priorité du nom de Plasmodiophoracées, seul adéquat à l'ensemble du groupe: ce dernier comprend seulement trois genres bien définis, *Plasmodiophora* Woronin, *Sorosphaera* Schröter, et *Tetramyxa* Göbel.

Le développement individuel et la cytologie de *Sorosphaera* étaient entièrement inconnus; les recherches de Blomfield et Schwartz²⁾, celles de Maire et Tison, plus détaillées, nous montrent que l'évolution de cet organisme présente d'étroites analogies avec celle de *Plasmodiophora*.

Sorosphaera est parasite sur les organes aériens de plusieurs espèces de *Veronica*, où il détermine de petites tumeurs arrondies. Le mécanisme initial de l'infection est inconnu, mais il est probable, d'après Blomfield et Schwartz, que l'invasion se produit dans le voisinage immédiat du point végétatif, au sommet de la tige. Le parasite s'introduit probablement à l'état de myxamibes uninucléés qui s'immobilisent rapidement au contact du cytoplasme de la cellule hospitalière. Le début de l'évolution paraît donc analogue à celui de *Plasmodiophora*, dont les premiers stades endoparasites sont également uninucléés, contrairement à l'opinion de Doflein.³⁾

Le développement végétatif de ces „myxamibes“ immobiles est accompagné de phénomènes nucléaires intéressants qui méritent d'être brièvement résumés.

Le noyau primitif possède un volumineux karyosome séparé de la membrane nucléaire par un espace clair traversé par des fibres achromatiques rayonnantes; sous la membrane se trouvent encore des granulations chromatiques plus ou moins nombreuses. Le noyau se divise mitotiquement en deux noyaux égaux; les divisions se répètent synchroniquement pour tous les noyaux d'un même amibe, qui traverse des stades successifs à 2, 4, 8, parfois 16 noyaux, rarement davantage.

Les mitoses végétatives concordent avec les faits déjà connus dans *Plasmodiophora*. Une partie de la chromatine se sépare du karyosome pour contribuer à la formation d'une plaque équatoriale annulaire assez épaisse. Le reste du karyosome s'allonge en haltère et forme un fuseau central intranucléaire; l'ensemble produit une „cruciform figure“ très souvent réalisée et caractéristique. La plaque

¹⁾ R. Maire et A. Tison, La cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae. Annales Mycologici, Vol. VII. 1909.

²⁾ J. E. Blomfield and E. J. Schwartz, Some Observations on the Tumours on *Veronica Chamaedryis* caused by *Sorosphaera* *Veronicae*. Annals of Bot., Vol. XXIV. 1910.

³⁾ Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde, Jena 1909, p. 590.

équatoriale se dédouble; les plaques filles émigrent vers les pôles. La partie médiane du corps en haltère s'étire et finit par se rompre; les extrémités renflées s'agglomèrent pour former le karyosome de chacun des noyaux fils. La membrane nucléaire primitive se conserve pendant toute la durée de la mitose et contribue à la reconstitution de la membrane des noyaux fils.

Pendant la période de croissance et de multiplication nucléaire, le cytoplasme de l'amibe peut se fractionner en individus indépendants uni-ou plurinucléés, dont la formation rapide assure l'infection intense de l'hôte envahi. D'après Blomfield et Schwartz il n'y a cependant jamais migration du parasite, de cellule en cellule, à travers la membrane cellulaire; l'extension des tumeurs résulte seulement de l'hypertrophie et de la division plus ou moins active des cellules primitivement attaquées.

Dans un louable souci d'homologie, Maire et Tison considèrent cette phase de multiplication végétative comme un stade schizogonique; mais il ne faudrait pas s'illusionner sur la valeur de cette interprétation. La soit-disant schizogonie de *Sorosphaera* aboutit sans doute au même résultat, mais ressemble beaucoup plus à une plasmotomie qu'à une schizogonie normale, telle que celle de *Trichosphaerium Sieboldii* par exemple.

L'évolution végétative concorde nettement, dans ses grandes lignes, avec celle de *Plasmodiophora*; les myxamibes multinucléés, ou plasmodes immobiles demeurent indépendants chez *Sorosphaera*, tandis que, d'après Nawaschin et Prowazek, ils se fusionnent plus ou moins dans *Plasmodiophora*; pour Maire et Tison, la fusion n'est qu'apparente et l'individualité de chaque plasmode (pseudoplasmode) se manifeste par le défaut de synchronisme dans les divisions nucléaires des individus associés.

La période reproductrice proprement dite, considérée comme une sporogonie par Maire et Tison, débute de la même manière dans les deux genres, par une modification profonde de la constitution et du mode de division des noyaux.

Les préliminaires de l'évolution sporogonique sont caractérisés par une pulvérisation du karyosome et par une sorte d'épuration nucléaire, pendant laquelle la majeure partie de la chromatine émigre dans le cytoplasme sous forme de granulations chromidiales; le cytoplasme est devenu plus chromophile, et les noyaux, presque invisibles, semblent représentés seulement par des vacuoles vagues et irrégulières (chromidial or akaryote stage).

Les noyaux reproducteurs, reconstitués ensuite, n'ont pas de karyosome, mais un réseau chromatique comparable à celui des noyaux des plantes supérieures. Ils subissent deux mitoses consécutives qui ont pour résultat d'individualiser les noyaux définitifs des spores.

Blomfield et Schwartz mentionnent une fragmentation précoce du plasmode en autant de territoires cytoplasmiques (amœbulae) que de noyaux reproducteurs, mais considèrent les deux divisions nucléaires comme des mitoses ordinaires, caractérisées seulement par la petitesse croissante de leurs produits.

D'après Maire et Tison, la fragmentation cytoplasmique est plus tardive, mais les deux mitoses offrent tous les caractères d'un véritable processus de réduction. La première mitose serait nettement hétérotypique, avec stades de synapsis et de diakinèse parfaitement évidents. Il est même possible de constater la réduction numérique; le nombre des chromosomes passe de 16, dans les gémis hétérotypiques, à 8 chromosomes simples au moment de la télophase. Il est alors probable que les deux types de prophase décrits par Prowazek au stade correspondant, chez *Plasmodiophora*, résultent simplement d'une sériation défectueuse des figures observées.

La deuxième mitose, qui suit immédiatement, complète, d'après Maire et Tison, le processus de la réduction chromatique.

Prowazek qualifie simplement de „divisions génératives“ ces deux mitoses coordonnées, mais il admet une différenciation sexuelle des noyaux générateurs au même stade.

La sporogonie de *Sorosphaera* s'achève par la formation des spores. Le cytoplasme se découpe en autant de territoires distincts qu'il y a de noyaux définitifs; il se forme ainsi autant de cellules nues, d'abord agglomérées irrégulièrement, mais bientôt disposées en une sphère creuse, ou „balle de spores“, caractéristique. Chaque spore se revêt d'une épaisse membrane et passe à l'état de repos.

Le mode de germination des spores est inconnu.

L'évolution reproductrice de *Plasmodiophora* avait été trouvée plus complexe par Prowazek. A la suite des deux „divisions génératives“, et de la fragmentation du plasmode, les masses protoplasmiques uninucléées se fusionnent deux par deux, révélant ainsi leur nature sexuelle de gamétocytes (sporogamètes). Le zygote (copula), issu de cette fécondation autogame (pédogamie), contient deux noyaux. L'un d'entre eux (noyau mâle?) éprouve alors une division réductrice (une ou deux), et se fusionne ensuite avec l'autre noyau primitif pour former un synkaryon, noyau définitif de la spore.

Les résultats de Prowazek, inexactement rapportés par Hartmann¹⁾, reproduits avec doute par Doflein²⁾, ont été énergiquement contestés par Maire et Tison. Ces auteurs n'ont pu retrouver aucun des derniers phénomènes décrits par Prowazek, et les interprètent comme des anomalies nucléaires et cellulaires accidentelles.

¹⁾ Hartmann, Autogamie bei Protisten, Jena 1909, p. 22.

²⁾ Doflein, Lehrbuch der Protozoenkunde, Jena 1909, p. 592.

On est d'autant plus tenté de leur donner raison, que l'évolution reproductrice tracée par Prowazek n'aurait son parallèle chez aucun autre Protiste d'affinités végétales.

D'autre part, l'autonomie tranchée de la sporogonie, l'existence probable de la réduction chromatique font admettre l'éventualité presque nécessaire d'une fécondation. L'opinion de Maire et Tison, qui prévoient une conjugaison sexuelle lors de la germination de la spore, nous paraît cependant aussi peu vraisemblable que celle de Prowazek. L'hypothèse la plus plausible, écartée sans raisons suffisantes par Maire et Tison, est celle de karyogamies conjuguées dans le plasmode, avant les divisions réductrices. Blomfield et Schwartz n'ont rien vu de pareil, il est vrai, mais ils n'ont pas vu non plus la réduction chromatique à la sporulation. Maire et Tison ont donné de nombreux dessins de noyaux en contact étroit, mais „diverses considérations“ (?) les ont conduits à interpréter toutes les figures comme des fins d'anaphase.

On sait combien est laborieuse la sériation rigoureuse de phases nucléaires diverses, juxtaposées dans des préparations d'ensemble, quand le contrôle nécessaire par l'observation *in vivo* fait totalement défaut.

Il reste encore des lacunes à combler, des difficultés à résoudre, sur lesquelles l'étude des *Tetramyxa*¹⁾ jettera sans doute quelque lumière.

Sous ces réserves, la famille des Plasmodiophoracées nous apparaît comme un groupe de Mycétozoaires nettement individualisé, ne comprenant que des formes parasites, à mobilité éphémère, perdue dès le début de la vie parasitaire.

L'existence d'un stade flagellé initial dans les *Plasmodiophora* est le meilleur indice de leurs affinités avec les Myxogastres qui en diffèrent surtout par la vie indépendante, et par la complication morphologique en rapport avec ce mode d'existence.

Myxogasteres.

Groupe central, véritable noyau systématique du monde des Mycétozoaires, l'ordre des Myxogastres forme aujourd'hui, d'après les évaluations très réservées de son plus récent monographe, C. Torrend²⁾, une phalange compacte de plus de 260 espèces, aussi remarquables par l'uniformité de leur organisation végétative que par la curieuse diversité de leurs fructifications.

¹⁾ Molliard, Une nouvelle Plasmodiophoracée parasite du *Triglochin palustre*. Bull. soc. bot. France, T. LVI. 1909.

²⁾ C. Torrend, Flore des Myxomycètes, S. Fiel. 1909.

Depuis les synthèses magistrales de de Bary et de Rostafinski, la notion primitive de Mycétozoaires ou de Myxomycètes a pu être obscurcie ou dénaturée par une extension abusive ou inconsidérée; mais rien n'a encore ébranlé l'homogénéité et l'autonomie des Myxogastres, seuls organismes actuels possédant une phase myxoflagellée initiale, suivie d'une végétation libre, indépendante, à l'état de plasmode vrai, mobile, inauguré par le fusionnement réel de myxamibes uninucléés.

Depuis les premières observations de de Bary, les naturalistes ont souvent abordé l'étude de la germination des spores chez les Myxogastres; mais le sujet n'est pas épuisé, et chacun l'envisage plus ou moins au gré de son tempérament individuel.

E. Jahn¹⁾ nous a donné une théorie biochimique du mécanisme qui assure la déhiscence de la membrane sporale et la sortie du corps protoplasmique. La „mise en train“ de l'activité germinative dans la spore serait le résultat de l'intervention d'un principe diastasique, ou enzyme (glycogénase), capable de transformer le glycogène de la spore en maltose; l'augmentation consécutive de la pression osmotique provoquerait la rupture de la membrane et libérerait ainsi son contenu.

Abordant la question en Bactériologiste, Pinoy²⁾ annonce en 1903 et maintient en 1907, la nécessité d'une intervention bactérienne, comme chez les Acrasiés. Cette intervention est inévitable dans la nature, car les sporanges contiennent toujours une foule d'impuretés; il n'est donc pas possible de récolter des spores aseptiquement; mais on peut faire des cultures pures mixtes, où le Myxogastre est associé à une seule espèce bactérienne. Des semis de *Didymium* (*Chondrioderma*) *difforme* et de *Didymium effusum*, auparavant stériles, ont ensuite parfaitement évolué, au contact d'une culture bactérienne.

Opérant sur des matériaux plus nombreux et plus variés, mais sans précautions aseptiques spéciales, Constantineanu³⁾ examine l'influence de divers milieux minéraux ou organiques, pour des concentrations et des températures variées. Il formule cette conclusion un peu hardie, que les spores des Myxogastres ont seulement besoin, pour germer, d'eau et d'oxygène. La germination se produit même dans l'eau distillée parfaitement pure; sa rapidité est généralement assez grande pour que l'intervention éventuelle des Bactéries soit nulle, ou pratiquement négligeable.

¹⁾ E. Jahn, Myxomycetenstudien. 4. Die Keimung der Sporen. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXIII. 1905.

²⁾ E. Pinoy, Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. Thèse. Paris 1907.

³⁾ Constantineanu, Über die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. Annales mycologici, Vol. IV. 1906.

Enfin Kusano¹⁾, orienté par ses observations sur le chémo-tactisme des myxamibes, attribue à l'ionisation du milieu une influence prépondérante. Les ions H^+ exercent une action favorisante, qui justifie la prédilection bien connue des Myxogastres pour les milieux faiblement acides. Les ions OH^- sont très nuisibles, même pour de faibles concentrations; mais une acidité forte, c'est à dire une proportion trop élevée des ions H^+ , est également mortelle pour les myxamibes.

Parmi les observations relatives à la morphologie de la germination, nous retiendrons surtout celles de Jahn²⁾, les plus modernes, et les plus intéressantes.

En 1904, Jahn avait déjà étudié la division primaire et la formation du flagelle de la myxomonade dans 7 espèces. Le plus souvent (5 espèces), le flagelle émerge seulement après la division cellulaire et nucléaire, mais dans *Stemonitis flaccida* et *Reticularia Lycopodon* la formation du flagelle est très précoce, et débute déjà pendant les dernières phases de la mitose.

Dans *Stemonitis flaccida*, par exemple, le cytoplasme évadé de la spore s'arrondit d'abord en une masse globuleuse nue et immobile. Le noyau, plus ou moins excentrique, entre bientôt en mitose par la formation d'un fuseau achromatique intranucléaire au début, ensuite étendu dans toute la longueur de la cellule. La plaque équatoriale ne tarde pas à se dédoubler. Pendant l'anaphase, la cellule s'allonge dans le sens de l'axe polaire et le fuseau s'étire en s'effilant dans sa région médiane.

A ce moment apparaissent, vers les deux pôles, les ébauches des futurs flagelles, sous forme de petites protubérances cytoplasmiques creusées d'une sorte de vacuole pulsatile. Pendant leur croissance, s'achève la division cellulaire. Les pôles fusoriaux sont occupés par deux centrioles. La région polaire de l'appareil achromatique se conserve, en dehors des noyaux fils, comme un appendice conique fibreux et sombre surmonté par le centriole et prolongé par le flagelle. Cette disposition remarquable, déjà figurée par Henrique Plengue³⁾, paraît homologue au rhizoplaste des *Polytoma* et d'un grand nombre d'autres Flagellés.

¹⁾ S. Kusano, Studies on the chemotactic and other related reactions of the Swarmspores of Myxomycetes. Journ. Coll. Agric. Tokyo. 1908.

²⁾ E. Jahn, Myxomycetenstudien. 3. Kernteilung und Geißelbildung bei den Schwärmern von *Stemonitis flaccida* Lister. Berichte d. deutschen bot. Ges., Bd. XXII. 1904.

³⁾ Henrique Plengue, Über die Verbindungen zwischen Geißel und Kern bei den Schwärmzellen der Mycetozen usw. Verhandl. nat. med. Vereins zu Heidelberg, Bd. VI. 1899.

Le noyau des myxamibes¹⁾ est assez petit, avec un nucléole et une chromatine périphérique dense et granuleuse; sa structure ne s'éclaircit guère que pendant la mitose.

Nous sommes mal informés sur les phénomènes cytologiques ultérieurs. Le stade myxoflagellé (myxomonade), succédant plus ou moins directement à la germination paraît être de courte durée, ce qui n'exclut pas, cependant, la possibilité de divisions répétées à cet état. Il est suivi de la période amiboïde et de la formation du plasmode, dont la cytologie n'est pas encore connue dans ses origines. On sait seulement que le fusionnement complet des cytoplasmes des amibes n'est accompagné d'aucune fusion nucléaire.

L'activité reproductrice des Myxogastres parvenus à l'état adulte, se manifeste, comme on sait, par la formation d'une énorme quantité de spores, généralement incluses dans des appareils complexes (sporangies ou sporocystes), à l'exception du seul genre *Ceratiomyxa*, où les spores sont exogènes.

Depuis quelques années les présomptions s'accumulent, en faveur de l'existence d'une sexualité, en rapport plus ou moins immédiat avec la sporogénèse. La fécondation et la réduction chromatique, cytologiquement solidaires, ont été reconnues dans quelques exemples, mais nous sommes encore privés d'une théorie générale et définitive; des divergences profondes peuvent être relevées dans les descriptions et interprétations des auteurs.

Le fait cytologique le mieux établi, découvert dès 1884 par Strasburger dans *Trichia fallax*, est une mitose simultanée subie par tous les noyaux du sporange, immédiatement avant l'individualisation des noyaux des spores. Revue ensuite par Rosen, et par A. Lister, cette mitose a été décrite de nouveau en 1900 par Harper dans *Fuligo varians*: elle est probablement constante chez les Endosporés.

C'est seulement en 1907 que Jahn²⁾ et Helene Kränzlin³⁾ l'ont identifiée avec une mitose hétérotypique, la considérant ainsi comme le premier acte d'un processus de réduction. Malheureusement les auteurs n'ont pu reconnaître aucune des particularités caractéristiques de la métaphase et de l'anaphase hétérotypiques. Dans la prophase seule, ils rencontrent des aspects qui méritent probablement d'être assimilés au synapsis et à la diakinèse. La télophase de cette première mitose réductrice n'est pas encore élucidée, mais il est in-

¹⁾ La figure 524 A de Doflein, Lehrbuch, p. 581, s'applique à *Amaurochaete atra* et non à *Stemonitis flaccida*.

²⁾ E. Jahn, Myxomycetenstudien. 6. Kernverschmelzungen und Reduktions-teilungen. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXV. 1907.

³⁾ Helene Kränzlin, Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien. Arch. f. Protistenk., Bd. IX. 1907.

téressant de constater qu'elle précède immédiatement la formation des spores. Chaque spore reçoit donc en réalité un noyau directement issu de la mitose hétérotypique. Le processus de réduction se trouve ainsi interrompu, pendant toute la période de vie ralentie de la spore mûre.

La réduction s'achève à la germination. La mitose homotypique est précisément le premier événement cytologique consécutif à la déhiscence de la spore; nous l'avons déjà décrit en étudiant la morphogénèse des myxamibes.

La démonstration de la réalité effective de la réduction chromatique, entraîne la nécessité d'une fécondation, d'une union sexuelle compensatrice. Les auteurs l'ont cherchée avec un soin extrême, et pensent l'avoir trouvée dans des phénomènes de fusion nucléaire antérieurs à la différenciation définitive des sporanges.

Prowazek¹⁾ avait déjà signalé, dans le plasmode de *Physarum psittacinum*, des karyogamies indiscutables, mais ne leur avait attribué aucune signification sexuelle. Jahn et H. Kränzlin considèrent au contraire les fusions nucléaires observées dans les fructifications comme de véritables fusions sexuelles. C'est un cas particulier d'autogamie simultanée, où la plupart des noyaux se conjuguent deux à deux, tandis que les noyaux non accouplés dégénèrent et disparaissent.

Cette autogamie collective se compliquerait, d'après Pinoy²⁾, d'une véritable disparité sexuelle, chez le *Didymium nigripes*, dont les plasmodes jouiraient d'une sorte d'unisexualité physiologique analogue à celle des Mucorinées hétérothalliques.

La karyogamie sexuelle se produit probablement toujours pendant le développement du sporange; les synkaryons sont précisément les noyaux destinés à entrer ensuite en prophase hétérotypique. La fécondation précède ainsi immédiatement la réduction. La diplophase, ou stade diploïde, représentée par les synkaryons seuls, comme chez les *Coleochaete*, se trouve réduite au minimum.

Il est difficile d'homologuer l'histoire cytologique des *Ceratiomyxa* avec le cycle des Endosporés tel que nous venons de le résumer. Les mémoires récents d'E. Olive³⁾ et de Jahn⁴⁾ contiennent des renseignements contradictoires, entre lesquels il serait prématuré de se prononcer.

¹⁾ J. Prowazek, Kernveränderungen in Myxomycetenplasmodien. Österr. bot. Zeitschr., Bd. LIV. 1904.

²⁾ Pinoy, Existence d'un dimorphisme sexuel chez *Didymium nigripes*. Comptes Rendus Soc. Biol. 1908.

³⁾ E. W. Olive, Cytological studies on *Ceratiomyxa*. Trans. Wisconsin Acad. Sc. Arts and Letters, Vol. XV. 1907.

⁴⁾ E. Jahn, Myxomycetenstudien. 7. *Ceratiomyxa*. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXVla. 1908.

D'après Olive, la karyogamie sexuelle se produit tardivement, vers la fin de la fragmentation du protoplasme en masses sporogènes, et le synapsis intervient aussitôt après. Les deux mitoses suivantes, qui donnent les 4 noyaux caractéristiques de la spore mûre, seraient des mitoses de réduction. La spore jeune, encore uninucléée (protospore), aurait ainsi la même valeur cytologique que les gonotokontes des végétaux supérieurs.

E. Jahn conteste vivement cette évolution. D'après lui, les karyogamies sexuelles seraient beaucoup plus précoces, contemporaines de l'apparition du plasmode à l'extérieur du substratum nourricier, sinon antérieures à ce phénomène; elles seraient accompagnées, comme chez les Endosporés, d'une dégénérescence des noyaux non accouplés.

Désormais le nombre des noyaux n'augmente plus. Lorsque l'édification de l'appareil sporifère est assez avancée, ils entrent en prophase hétérotypique, avec synapsis et diakinèse d'autant plus nets que la numération des chromosomes peut être effectuée sans grandes difficultés. L'achèvement de la mitose hétérotypique serait suivi de la dégénérescence de la moitié environ des noyaux fils, réalisant ainsi une élimination de la moitié de la chromatine totale.

Quant aux divisions du noyau primaire dans la spore, elles n'ont aucune signification cytologique spéciale; elles représentent, en quelque sorte, une avance morphologique en vue de la germination, qui produit, comme on sait, 8 myxamibes chez les *Ceratiomyxa*.

Dans l'ensemble, la théorie de Jahn s'accorde mieux que celle d'Olive avec ce que nous savons des Endosporés. Il est cependant difficile d'admettre que le processus de réduction se ramène ici, exceptionnellement, à la seule mitose hétérotypique suivie de dégénérescences nucléaires. Il paraît plus probable que la première mitose de la spore, dont Jahn n'a obtenu que des préparations insuffisantes, est une mitose réellement homotypique, comme chez les Endosporés. Le mode particulier de germination de la spore de *Ceratiomyxa* n'est pas absolument isolé chez les Myxogastres; nous savons en effet que les spores de *Spumaria alba* par exemple, peuvent également donner 8 myxamibes à la germination.

La question des affinités des Myxogastres, et des Mycétozoaires en général, a été effleurée ici même par Vuillemin¹⁾, discutée en détail par Lotsy²⁾, et tout récemment par Maire et Tison.³⁾

L'idée d'une parenté directe entre Acrasiés et Myxogastres paraît de plus en plus abandonnée. Les différences entre ces deux groupes sont multiples et profondes.

¹⁾ Progressus rei botanicae, Bd. II p. 110.

²⁾ Lotsy, Vorträge . . . usw., 1907, p. 390, 398.

³⁾ Maire et Tison, l. c. p. 245.

Comme nous l'avons déjà remarqué, l'absence complète de stade flagellé chez les Acrasiés doit avoir un sens phylogénétique, et nous conduit à rechercher leur souche originelle du côté des Rhizopodes inférieurs, auxquels ils se rattachent par leurs formes élémentaires telles que *Sappinia*.

D'autre part, l'apparition régulière de myxomonades à la germination des spores des Myxogastres, serait le critérium des affinités réelles de ce groupe, issu des Flagellés inférieurs, non loin des Sporozoaires (sensu lato).

Les Plasmodiophoracées, incorporés par Lotsy dans les Myxogastres, sont considérés au contraire par Maire et Tison, „comme un groupe entièrement distinct“.

Dans la discussion relative à la sexualité des *Plasmodiophora*, nous avons déjà montré que nous ne sommes pas plus disposés à accepter le bien-fondé de la théorie de Maire et Tison, que l'exactitude des observations de Prowazek. Nous pensons que les karyogamies sexuelles doivent se produire au même moment de la vie du plasmode, chez les Myxogastres et chez les *Plasmodiophora*.

Les deux groupes auraient ainsi en commun le stade myxoflagellé inaugural, et l'ensemble du cycle évolutif. Les différences secondaires seraient d'ordre écologique. Les Myxogastres, organismes libres, indépendants, ont conservé la mobilité permanente, et l'aptitude à construire des sporocystes hautement différenciés. Les Plasmodiophoracées, adaptés à la vie parasitaire, ont perdu la mobilité originelle et ont échappé à la nécessité d'édifier des fructifications compliquées.

Un démembrement parallèle peut être ébauché dans le groupe des Acrasiés, où l'on entrevoit déjà deux séries écologiques analogues. L'une correspond aux Acrasiés proprement dits des auteurs classiques; organismes libres, saprophytes, constamment mobiles, probablement dépourvus de sexualité actuelle.

L'autre série, à peine connue, pourrait être provisoirement désignée sous le nom de Sporomyxacées, et comprendrait les formes nouvellement décrites, *Peltomyces*, *Sporomyxa*, etc.; organismes toujours parasites, immobiles, possédant en général un cycle évolutif complexe; incorrectement adjoints par Doflein aux Plasmodiophoracées, mais ne possédant probablement avec ces derniers que les rapports de convergence consécutifs au parasitisme.

Saccharomyceteae.

Les Saccharomycètes sont, avec les Bactéries, les Protistes végétaux dont l'étude est le plus activement poursuivie par les biologistes; leur élaboration scientifique se traduit en effet par des avantages économiques considérables, et retentit directement sur l'important problème de la protection de la santé humaine. Il ne faut pas s'étonner des divergences révélées par l'analyse comparative de mémoires innombrables, rédigés avec un égal souci d'exactitude, mais inspirés de mobiles variés, et orientés en sens divers.

La majeure partie de ce labeur n'a pas d'intérêt pour la Protistologie, et nous n'aurons pas à en tenir compte. Malgré ces restrictions, la question des Levures demeure encore vaste et complexe. Nous examinerons successivement trois sujets principaux: l'organisation cellulaire des levures; leurs modes de reproduction; leurs affinités systématiques et phylogénétiques.

I. La cytologie des *Saccharomyces* est bien une cytologie de Protistes; comme celle des Schizophytes, dont on l'a parfois rapprochée, elle se distingue par certaines modalités spécifiques des trois termes de la trilogie cellulaire fondamentale, membrane, cytoplasme et noyau. Les problèmes particuliers qu'elle soulève ont été passionnément discutés. Les fautes de technique, les erreurs d'interprétation que les spécialistes se reprochent entre eux, ont été sans doute parfois commises, et la vérité n'est pas toujours facile à discerner dans ce dédale.

Les cellules jeunes des levures bourgeonnantes possèdent une membrane habituellement très mince, difficilement révélée par les réactifs colorants ou par la plasmolyse; elle s'épaissit plus ou moins dans les cellules âgées, mais sa composition chimique n'est pas encore élucidée.

La présence de substances hydrocarbonées est cependant hors de doute.¹⁾ Les traitements successifs par les acides et les alcalis ont permis d'isoler une hémicellulose et une „gomme de levure“ donnant par hydrolyse un mélange de sucres divers, mannose, glucose, galactose, etc.

Il n'y a pas de cellulose proprement dite, ni de chitine; nous manquons de données précises sur l'existence éventuelle d'autres substances caractérisées, pectose, callose, etc.

L'organisation interne manifeste une grande variabilité, qui dépend de l'âge de la cellule, de l'activité de la fermentation, de la richesse alimentaire du milieu, etc.

¹⁾ Meigen und Spreng, Über die Kohlehydrate der Hefe. Zeitschr. f. phys. Chemie. 1908.

La densité du cytoplasme fondamental, le nombre et les dimensions de ses vacuoles, l'abondance relative des réserves nutritives et autres inclusions figurées, la constitution et la chromaticité du noyau, sont autant de facteurs variables, réalisant entre eux les combinaisons les plus diverses; l'origine et la signification de ces nombreuses dispositions ne peuvent être établies que par l'observation comparative et le contrôle incessant des éléments vivants et des matériaux fixés.

Les mémoires récents de Kohl¹⁾, de Guilliermond²⁾, et de Wager et Annie Peniston³⁾, nettement inspirés de cette discipline indispensable, nous permettent de nous faire aujourd'hui une idée satisfaisante de la structure d'une Levure.

L'existence du noyau n'est plus sérieusement contestée par personne.

H. Wager a pris dans la question, en 1898, une position particulière où il se maintient encore dans son dernier mémoire, écrit dans un style persuasif, et accompagné de planches démonstratives. D'après lui, le noyau occupe une place énorme, en rapport vraisemblable avec l'activité biologique extrême de la cellule de levure. Il se compose de deux parties: une volumineuse vacuole nucléaire, sans membrane propre, et un nucléole chromatique, extérieur à la vacuole. Celle-ci est occupée par un suc nucléaire incolore, et par un réseau périphérique lâche, faiblement colorable, dont les filaments contiennent de nombreux granules de chromatine.

Le nucléole est un corps arrondi, homogène, sans affinité élective pour les colorants nucléaires, mais parfois imprégné ou revêtu de chromatine granuleuse fortement colorable par l'hématoxyline ferrique.

La plupart des autres cytologistes, en particulier Swellengrebel⁴⁾, Fuhrmann⁵⁾, Kohl, et Guilliermond s'accordent pour refuser à la vacuole toute valeur nucléaire, et considèrent le nucléole de Wager comme le véritable noyau de la levure.

Ce noyau est délimité par une membrane distincte et colorable; il contient un nucléoplasme incolore traversé par un réseau chromatique peu différencié, et un volumineux karyosome (nucléole de Guilliermond, Krystalloïde de Kohl), dans lequel est probablement condensée la majeure partie de la chromatine.

¹⁾ G. Kohl, Die Hefepilze. Leipzig 1908.

²⁾ Guilliermond, Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des Levures, et quelques observations nouvelles sur la structure de ces champignons. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXVI. 1910.

³⁾ H. Wager and Annie Peniston, Cytological observations on the Yeast Plant. Ann. of Bot., Vol. XXIV. 1910.

⁴⁾ Swellengrebel, Sur la division nucléaire de la levure pressée. Annales Inst. Pasteur, T. XIX. 1905.

⁵⁾ F. Fuhrmann, Der feinere Bau der Saccharomycetenzelle. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XVI. 1906.

De grands progrès ont été réalisés dans la question délicate des inclusions figurées, grains ou granules divers, presque toujours présents dans la cellule.

Wager avait déjà, en 1898, reconnu l'existence de deux sortes de granules: les uns, visibles sur le vivant comme des corpuscules brillants et réfringents, sont formés soit par des gouttes d'huile, soit par de la métachromatine (volutine). Les autres, invisibles sur le vivant, mais très colorables par les teintures nucléaires, sont des granules de chromatine; ils appartiennent normalement à l'appareil nucléaire.

Kohl distingue également deux catégories d'inclusions; les cristalloïdes albuminoïdes et les corpuscules métachromatiques. Les premiers sont généralement localisés dans le cytoplasme et peuvent être directement homologués aux „Cyanophycinkörnern“ des Cyanophycées. Guilliermond les a récemment retrouvés; il a reconnu qu'ils se colorent énergiquement par l'hématoxyline ferrique, et ne fixent pas les couleurs acides; il les désigne provisoirement sous le nom de „grains basophiles“, et refuse de les identifier soit à des cristalloïdes soit à des grains de cyanophycine. Ils sont probablement identiques aux soit-disant granules de chromatine de Wager.

L'existence des corpuscules métachromatiques est reconnue depuis longtemps chez les levures; les opinions diffèrent sur leur localisation, leur constitution chimique et leur destination. Ils sont généralement logés dans des vacuoles spéciales où ils présentent souvent un mouvement Brownien très apparent. La vacuole centrale (vacuole nucléaire de Wager) en contient toujours au moins un, parfois deux ou plusieurs, plus volumineux que tous les autres. Wager observe cependant que ce granule se colore parfois par l'hématoxyline ferrique, et qu'il donne les réactions du Phosphore et du Fer de Macallum; il ne serait donc pas entièrement homologue aux autres grains de volutine, et pourrait avoir des relations plus directes avec la substance chromatique du noyau (vacuole nucléaire) qui le contient.

II. Le mécanisme cytologique du bourgeonnement est exposé à peu près de la même manière par tous les auteurs, abstraction faite des divergences relatives à l'interprétation de la structure fondamentale de la cellule.

Swellengrebel et plus tard Fuhrmann¹⁾ avaient décrit un processus de division nucléaire indirecte donnant des figures de mitose normale à 4 chromosomes. Ces observations sont contestées par Kohl, Guilliermond²⁾ et Wager qui considèrent ces figures

¹⁾ Fuhrmann, Die Kernteilung von *Saccharomyces ellipsoideus* I Hansen bei der Sproßbildung. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XV. 1905.

²⁾ Guilliermond, Morphologie et Cytologie des Levures. Bull. Inst. Pasteur, Vol. III. 1905.

comme représentant simplement quelques-unes des innombrables modalités de la répartition de la chromatine dans le noyau. Ce dernier se divise uniquement par amitose; il s'allonge et s'étrangle en une haltère bientôt rompue dans sa partie médiane.

Swellengrebel et Fuhrmann ont aussi prétendu que la division du noyau précède le bourgeonnement. Kohl et Guilliermond affirment qu'il n'y a aucune relation nécessaire entre les deux phénomènes. Le développement du bourgeon débute en un point apparemment quelconque, sans participation immédiate du noyau; celui-ci ne se divise que plus tard. Finalement le bourgeon acquiert une structure normale de levure avant de s'isoler de la cellule-mère. Une expansion de la vacuole centrale (vacuole nucléaire de Wager) pénètre dans le bourgeon en même temps que le corps chromatique (noyau des auteurs, nucléole de Wager) résultant de l'amitose dans la cellule-mère.

La sporulation des Levures industrielles, en particulier de *Saccharomyces cerevisiae*, a été étudiée avec beaucoup de soin. D'après Guilliermond et Wager et Peniston, les cellules qui doivent sporuler contiennent une grande quantité de glycogène et de corpuscules métachromatiques, destinés à être en partie consommés par les spores. Les „grains basophiles“ de Guilliermond¹⁾ ne jouent dans la sporulation qu'un rôle effacé. Cette constatation se trouve confirmée, malgré la divergence des points de vue, par Wager qui observe une résorption complète de la vacuole nucléaire avant la sporulation. Les granules chromatiques disparaissent en partie, tandis que le cytoplasme acquiert une plus grande chromaticité; le nucléole est devenu plus volumineux; on distingue en outre une masse granuleuse très chromatique en contact direct avec sa surface, ou pénétrant dans son intérieur.

Kohl est très catégorique, quant au mécanisme de la division nucléaire dans la cellule-mère des spores: c'est une division „directe, amitotique, une fragmentation“. Elle se manifeste toujours par un allongement du noyau en haltère, ne différant des haltères de bourgeonnement que par des dimensions plus réduites. Wager et Peniston admettent aussi qu'il s'agit d'une division directe ou d'une fragmentation, sans aucune trace de figure fusoriale, ni de chromosomes. L'ensemble du nucléole et de la masse chromatique se divise en deux moitiés plus ou moins égales par allongement et étranglement consécutif.

La seconde division reproduit les mêmes phénomènes, de sorte que les noyaux des spores sont composés d'une fraction du nucléole primitif avec la chromatine granuleuse qui l'accompagne. Enfin le

¹⁾ Guilliermond, Remarques critiques etc. L. c. 1910.

cytoplasme sporogène très chromatique complète le matériel constitutif de la spore.

Guilliermond ¹⁾ ne considère pas cette question comme définitivement résolue. Les noyaux sont trop petits pour laisser bien voir les détails de la division nucléaire. La présence du cytoplasme sporogène très colorable a pu donner lieu à des erreurs d'interprétation et masquer la véritable nature du phénomène qui pourrait bien être une sorte de mitose primitive.

On sait enfin depuis longtemps, que la germination des spores se réduit à une augmentation de volume, immédiatement suivie de bourgeonnement normal. L'évolution des *Saccharomyces* typiques, tels que *S. cerevisiae* et autres levures industrielles, présente ainsi une très grande simplicité cytologique. A aucun stade on n'observe de modifications morphologiques profondes, intéressant l'équilibre interne et le balancement réciproque du cytoplasme et du noyau. L'invariabilité presque absolue de la relation nucléoplasmique ²⁾ exclut l'intervention de crises cytologiques comparables à une sexualité ou à une réduction.

Il n'en est pas ainsi chez la plupart des organismes que leur morphologie et leurs aptitudes biochimiques conduisent à rapprocher des Saccharomycètes proprement dits.

La conjugaison cellulaire et la karyogamie qui précèdent la sporulation des Zygo- et Schizo-saccharomycètes sont généralement considérées comme de nature sexuelle. Mais les phénomènes cytologiques analogues qui inaugurent la germination des spores de *Saccharomycodes Ludwigii*, *Willia Saturnus*, et de la Levure de Johannisberg II, sont plus diversement appréciés. Guilliermond ³⁾ les considère comme une véritable fécondation, comme une sorte de conjugaison secondaire compensatrice, résultant d'un déplacement chronologique de la sexualité primitive.

Il a eu récemment l'occasion de revoir ces phénomènes dans la Levure de Johannisberg II. Le bourgeonnement végétatif se produit généralement sur le canal copulateur dans lequel les noyaux des cellules conjuguées se sont fusionnés. Parfois la karyogamie ne se produit pas; mais alors les deux noyaux (sexuels?) éprouvent une sorte d'amitose conjuguée en deux haltères parallèles. Deux noyaux fils homologues pénètrent dans le bourgeon et s'y fusionnent. „Il se constituerait donc un rudiment de synkaryon, mais celui-ci ne per-

¹⁾ Guilliermond, Remarques critiques etc. L. c. 1910.

²⁾ Kernplasmarelation de R. Hertwig.

³⁾ Guilliermond, Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les Levures. Rev. gén. Bot., T. XVII. 1905. — Remarques critiques etc. L. c. 1910.

sisterait pas, puisque les deux noyaux-fils du jeune bourgeon ne tardent pas à se fusionner.“¹⁾

La majorité des auteurs est plus réservée. P. Vuillemin²⁾ a fait connaître ici même son sentiment. Kohl paraît favorable au rapprochement établi par E. C. Hansen entre ces phénomènes et les cas de „pseudoconjugaison“ observés depuis longtemps (par Tulasne, etc.), et interprétés comme un simple mécanisme de renforcement pour l'activité végétative des Champignons mycéliens.

III. La question de l'origine phylogénétique des Levures, et de leurs affinités systématiques a été l'objet d'ardentes controverses. P. Vuillemin l'a déjà discutée ici même avec sa maîtrise habituelle; mais les temps vont vite, et depuis quatre ans, d'importantes découvertes ont profondément modifié la situation, et jeté un jour nouveau, probablement décisif, sur ces problèmes délicats.

Tout le monde est aujourd'hui d'accord sur un point essentiel: les Levures dérivent de champignons filamenteux appartenant à la grande série des Ascomycètes. Les Levures sont des Ascomycètes. Les cellules sporulées peuvent être appelées des asques, quel que soit leur mode de formation et leur évolution ultérieure.

La recherche de leurs affinités avec les termes supérieurs de la série, les Pyrénomycètes en particulier, nous apparaît maintenant comme illusoire: les espérances un peu hâtivement fondées sur les découvertes de Viala et Pacottet semblent définitivement ruinées par le contrôle critique des résultats de leurs expériences.³⁾

La théorie adverse, c'est à dire la théorie classique, qui place la souche des Saccharomycètes dans le voisinage immédiat des termes inférieurs de la série, a reçu au contraire, dans ces derniers temps, les plus précieux encouragements.

C'est d'abord la découverte faite en 1907 par Lindner⁴⁾, de l'*Endomyces fibuliger*, remarquable champignon filamenteux et bourgeonnant, produisant des asques à 4 spores hautement différenciées.

¹⁾ Voilà un exemple de la confusion déplorable introduite par R. Maire en 1900 (Actes du Congrès international de Botanique) à l'occasion de l'évolution cytologique des Urédinées. Le terme de Synkaryon, depuis longtemps réservé par les Zoologistes à la désignation du noyau unique résultant de la Karyogamie sexuelle, ne saurait être détourné de cette affectation; on ne peut donc que s'associer à la protestation récemment formulée par Kurt Nägler au nom de la logique et de la priorité. [K. Nägler, Entwicklungsgeschichtliche Studien üb. Amöben, in Arch. f. Protistenk., Bd. XV. 1909.]

²⁾ Progressus rei botanicae, Bd. II.

³⁾ Guilliermond, Recherches sur le développement du *Glaeosporium nervisequum* (*Gnomonia veneta*) et sur sa prétendue transformation en Levures. Rev. gén. Bot., T. XX. 1908.

⁴⁾ P. Lindner, *Endomyces fibuliger* n. sp., ein neuer Gärungspilz usw. Wochenschrift f. Brauerei. 1907.

Dombrowski¹⁾ nous a renseignés spécialement sur l'organisation et le mode de germination des spores, confirmant ainsi, sans les connaître, les observations antérieures de Guilliermond. Les deux auteurs ont étudié avec soin les anastomoses mycéliennes en bec ou en boucle (Schnallenbildungen d'Hoffmann), déjà signalées par Lindner. Ces anastomoses imperforées sont exclusivement localisées à la base des asques, mais manquent assez souvent; elles constituent, pour Guilliermond, les vestiges morphologiques d'une sexualité en voie de disparition.

L'*Endomyces javanensis*, rapproché du précédent par A. Klöcker²⁾, présente une tendance encore plus accentuée à la dissociation végétative et à la végétation en levure bourgeonnante. Les asques se forment indifféremment dans les cellules bourgeonnantes ou sur le mycélium, témoignant ainsi de l'entière équivalence de ces deux formes de végétation. Comme chez les *Saccharomyces* proprement dits, aucune trace de sexualité ne se manifeste pendant la sporulation.

Un autre champignon très remarquable, *Eremascus fertilis*, a été décrit avec soin en 1907 par Rose Stoppel³⁾, au point de vue morphologique et cytologique. Ses résultats ont été confirmés et complétés par Guilliermond.⁴⁾ *E. fertilis* est un Ascomycète exclusivement mycélien, à cellules uninucléées; les asques sphériques sont généralement octospores. Ces asques prennent naissance sur des rameaux anastomosés en une boucle dans laquelle se produit une karyogamie sexuelle. La fécondité extraordinaire de ce mode de reproduction nous explique l'absence de tout autre procédé de dissémination, par bourgeonnement, conidies etc.

Enfin *Endomyces Magnusii*, déjà connu depuis 1886, a été l'objet de nouvelles observations cytologiques très importantes. Le mycélium se compose généralement d'articles plurinucléés et la tendance à la structure uninucléée est beaucoup moins accentuée que dans les précédents; le mycélium se fragmente en tronçons cylindriques qui sont des oïdies pluri- ou uninucléées, se multipliant activement comme les cellules oïdies des Schizosaccharomycètes.

Plus heureux que Dangeard⁵⁾, qui avait cherché vainement les asques dans ses cultures, Guilliermond⁶⁾ a pu les obtenir en

¹⁾ W. Dombrowski, Sur l'*Endomyces fibuliger*. Comptes Rendus Trav. Lab. Carlsberg, Vol. VII. 1909.

²⁾ A. Klöcker, *Endomyces javanensis* nov. sp. Comptes Rendus Trav. Lab. Carlsberg, Vol. VII. 1909.

³⁾ Rose Stoppel, *Eremascus fertilis* n. sp. Flora, Bd. XCVII. 1907.

⁴⁾ Guilliermond, Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Endomycétées. Rev. gén. Bot., T. XXI. 1909.

⁵⁾ Dangeard, Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes. Le Botaniste, 9. Série. 1903—1908.

⁶⁾ Guilliermond, Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Endomycétées. Rev. gén. Bot., T. XXI. 1909.

abondance et démontrer cytologiquement l'existence d'une sexualité hétérogamique, d'abord pressentie puis énergiquement niée par Ludwig¹⁾ lui-même.

Guilliermond a suivi le développement des deux rameaux sexuels (anthéridie et oogone), et constaté la karyogamie entre le noyau mâle et le noyau femelle uniques. L'asque tétrasporé résulte de l'évolution ultérieure de la copula, c'est à dire de l'œuf fécondé, dont le volume augmente beaucoup.

Guilliermond remarque avec raison que l'affinité sexuelle peut s'exercer ici entre „gamètes“ très proches parents, comme dans *Eremascus* et dans les Levures sexuées. Ces faits sont à rapprocher des cas nombreux d'autogamie, ou plutôt de pédogamie²⁾, signalés dans les diverses séries du monde des Protistes.

Il est possible que ces particularités justifient quelque jour la création d'un genre nouveau, comme le pense Vuillemin³⁾; mais par l'ensemble de ses caractères morphologiques et de ses aptitudes biologiques, *Endomyces Magnusii* est inséparable des autres représentants du groupe qui nous occupe.

Les découvertes récentes, brièvement résumées ci-dessus, nous donnent l'impression d'un ensemble naturel, d'un groupe harmonique, et non d'un chaos de formes hétérogènes accidentellement rapprochées par les hasards de la convergence.

Sans vouloir suivre Guilliermond⁴⁾ dans le menu détail de ses spéculations phylogénétiques, il paraît hors de doute que nous possédons aujourd'hui les fondements essentiels d'une phylogénie systématique des Saccharomycètes.

Avec Guilliermond, nous considérons *Eremascus fertilis* comme un type très archaïque et très primitif d'Ascomycète, voisin de la forme souche qui aurait donné naissance aux *Endomyces* et aux formes voisines telles que *Podocapsa* et *Oleina*.⁵⁾

Un premier rameau, issu de la souche ancestrale, aurait subi une évolution spéciale, caractérisée, au point de vue végétatif, par l'adaptation au bourgeonnement (formes levures), et, au point de vue reproducteur, par la disparition progressive de la sexualité. A cette série appartiennent, d'une part *Endomyces fibuliger* et *Endomyces (Saccharomycopsis) capsularis*, d'autre part, tous les Zygosaccharomycètes, et les *Saccharomyces* proprement dits.

¹⁾ Ludwig, Lehrbuch der niederen Kryptogamen, 1892, p. 201.

²⁾ La pédogamie, et non podogamie, comme dit Guilliermond, a été définie par Prowazek en 1903, et non par Hartmann.

³⁾ Progressus rei botanicae, Bd. II.

⁴⁾ Guilliermond, Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Endomycètes. Rev. gén. Bot., T. XXI. 1909. — Remarques critiques sur différentes publications etc. Centralbl. Bakt., II. Abt., Bd. XXVI. 1910.

⁵⁾ Oleina et non Olinea comme dit Guilliermond.

Un deuxième rameau, détaché non loin du premier, aurait subi une évolution parallèle, caractérisée avant tout par l'adaptation progressive de l'appareil végétatif à une désarticulation plus ou moins complète en oïdies.

Cette deuxième série, moins homogène, moins nombreuse, mais aussi moins connue, comprendrait, entre autres, *Endomyces Magnusii* et tous les Schizosaccharomycètes.

Chytridineae.

La plupart des travaux modernes où nous pouvons puiser des renseignements utiles concernant la cytologie des Chytridinées, sont consacrés au seul genre *Synchytrium*.

Les mémoires de Dangeard¹⁾, Rosen²⁾, Harper³⁾, F. L. et A. C. Stevens⁴⁾, Löwenthal⁵⁾, F. L. Stevens⁶⁾, Kusano⁷⁾, Griggs⁸⁾, H. von Güttenberg⁹⁾ et J. Percival¹⁰⁾ contiennent des détails cytologiques plus ou moins étendus sur *Synchytrium Taraxaci*, *S. Anemones*, *S. anomalum*, *S. decipiens*, *S. fulgens*, *S. papillatum*, *S. puerariae* et *S. endobioticum*.

I. A la suite de l'infection, qui se produit toujours à l'état zoospore, l'organisme parasite demeure unicellulaire jusqu'au terme de

¹⁾ P. A. Dangeard, Recherches histologiques sur les champignons. Le Botaniste, 2. Série. 1890.

²⁾ F. Rosen, Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzellen. II. Studien über die Kerne usw. Cohn's Beiträge z. Biol. d. Pflanzen, Bd. VI. 1893.

³⁾ Harper, Cell division in Sporangia and Asci. Ann. of Bot., Vol. XIII. 1899.

⁴⁾ F. L. Stevens and A. C. Stevens, Mitosis of the primary nucleus in *Synchytrium decipiens*. Bot. Gazette, Vol. XXXV. 1903.

⁵⁾ W. Löwenthal, Weitere Untersuchungen an Chytridiaceen. Arch. f. Protistenk., Bd. V. 1904.

⁶⁾ F. L. Stevens, Some remarkable nuclear structures in *Synchytrium*. Annales Mycologici, Bd. V. 1907.

⁷⁾ Kusano, On the nucleus of *Synchytrium puerariae* Miyabe. Bot. Mag. Tokyo, Vol. XXI. 1907. — On the cytology of *Synchytrium*. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XIX. 1907. — Contribution to the cytology of *Synchytrium* and its hosts. Bull. Coll. Agr. Tokyo, Vol. VIII. 1909.

⁸⁾ R. F. Griggs, Some aspects of Amitosis in *Synchytrium*. Bot. Gazette, Vol. XLVII. 1909. — Mitosis in *Synchytrium*. Ibid., Vol. XLVIII. 1909.

⁹⁾ H. von Güttenberg, Cytologische Studien an *Synchytriumgallen*. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI. 1909.

¹⁰⁾ J. Percival, Potato „Wart“ disease; the life history and cytology of *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXV. 1909.

son évolution végétative. Son noyau, toujours unique, peut alors atteindre d'énormes dimensions, de 20 à 35 μ par exemple dans *Synchytrium decipiens* et *S. anomalum*.

Ce noyau présente généralement au repos une structure particulière. La majeure partie de sa chromatine est concentrée dans un volumineux karyosome (nucléole chromatique, Binnenkörper), vivement coloré par l'hématoxyline ou par la safranine. Le reste de la cavité nucléaire paraît à peu près vide; elle peut contenir un fin réticulum de linine ou bien une masse chromatique accessoire, moins colorable que le karyosome, en forme de croissant irrégulièrement lobé, appliqué contre le karyosome, et sans rapports immédiats avec la membrane nucléaire.

La phase reproductrice débute avec la première division de ce noyau. Dangeard et Rosen ont signalé autrefois une division directe du noyau primaire dans *S. Taraxaci*. J. Percival n'a pu voir aucune trace de mitose du même noyau dans *S. endobioticum*. Mais F. L. et A. C. Stevens ont donné une description détaillée des premiers stades d'une mitose typique du noyau primaire de *S. decipiens* et leurs observations ont été récemment confirmées par celles de Kusano sur le *S. puerariae*.

Parmi les particularités essentielles de cette première mitose, on peut signaler la vacuolisation croissante du karyosome, indice d'une désintégration progressive qui aboutit à sa disparition totale. Sa chromatine se répand dans la cavité nucléaire et imprègne spécialement le corps chromatique accessoire dont la colorabilité augmente rapidement. La chromatine s'organise ensuite en une sorte de spirème composé de nombreuses travées linéaires entrecroisées. Aux dépens de ce système chromatique bacillaire se constitue finalement un fuseau intranucléaire, sans aucune trace de centrosome ou de radiations polaires.

Pendant ce temps, le volume du noyau a éprouvé une diminution considérable. Sa membrane gélifiée se confond avec le cytoplasme ambiant, en une zone granuleuse plus ou moins nettement délimitée; la taille du noyau à ce stade ne dépasse guère celle du karyosome au repos.

La figure fusoriale est remarquable par sa brièveté et sa densité; un petit nombre de fibres, courtes et épaisses, entraînent vers les pôles les chromosomes très réduits, au nombre de 4 ou 5, destinés à la reconstitution des noyaux-fils. On ne possède malheureusement aucune figure ni description satisfaisante de la télophase de cette première mitose.

Il est possible que la multiplication des noyaux se continue d'abord par voie mitotique; mais au cours de cette phase, où le

nombre des noyaux augmente rapidement, une série d'autres phénomènes, plus ou moins assimilables à des processus d'amitose peuvent intervenir. Ils caractérisent une sorte de „période d'irrégularités“ dont Griggs a fait une étude très attentive.

Parmi les procédés qu'il a distingués, deux au moins semblent avoir un intérêt spécial au point de vue de la cytologie générale.

C'est d'abord le bourgeonnement nucléaire. Le noyau conserve sa structure normale de repos. Du karyosome compact se détache une petite protubérance: c'est un granule chromatique qui s'isole, traverse la cavité et la membrane nucléaire, pour s'arrêter au contact du cytoplasme environnant. Ce dernier se creuse d'une vacuole bientôt délimitée par une membrane nucléaire, et le nouveau noyau ainsi constitué s'éloigne dans le cytoplasme. Le bourgeonnement peut être simultané ou successif; parfois même le karyosome initial se pulvérise entièrement en granules chromatiques, et disparaît comme tel; le bourgeonnement se produit aussi dans des noyaux évolués en ébauche de spirème, mais cela ne change rien à l'essence du phénomène.

Le second procédé, nommé „heteroschizis“ débute par la disparition totale de la membrane et du suc nucléaire. Le karyosome demeuré seul au sein du cytoplasme grossit beaucoup et se dilate en lobes nombreux dans tous les sens. Ces lobes se séparent peu à peu et deviennent les karyosomes d'autant de nouveaux noyaux qui achèvent de se reconstituer comme dans le cas précédent. L'ensemble se présente d'abord comme une masse mûriforme et se désagrège ensuite. Ce procédé n'est pas sans analogies avec les phénomènes de division multiple observés chez d'autres Protistes (Coccidies par exemple), et peut être rattaché à la notion des noyaux polyénergides d'Hartmann.¹⁾

Après la période irrégulière, la division nucléaire redevient mitotique, et simultanée pour tous les noyaux d'une même individualité cytoplasmique. A ce stade, les noyaux sont déjà très petits et la chromatine est concentrée dans le karyosome globuleux.

Ces mitoses tardives ressemblent cependant à la mitose primaire, en ce sens que le karyosome fournit encore le matériel chromatique du spirème, et que le fuseau est d'origine intranucléaire. A la télophase, la membrane nucléaire a disparu; la figure fusoriale s'est effilée, de sorte que les noyaux-fils sont presque toujours très éloignés l'un de l'autre. Les éléments chromatiques se condensent en un seul grumeau très colorable qui représente le karyosome de chaque nouveau noyau.

Dans le même temps, le cytoplasme est le siège d'une différenciation remarquable, figurée et décrite d'une manière analogue par Stevens,

¹⁾ Hartmann, Polyenergidenkerne. Biol. Centralbl., Bd. XXIX. 1909.

Kusano, et Griggs. Au voisinage des nouveaux noyaux représentés par le karyosome entouré d'une vacuole, on voit, dans le cytoplasme, une striation radiaire comparable à un aster environnant une ébauche de centrosome. Un certain nombre des rayons de l'aster se recourbent autour de la vacuole, l'entourent entièrement et concourent à l'élabo-ration de l'épaisse membrane nucléaire. Quand celle-ci est achevée, le système des radiations se déforme, s'atténue, se réduit à une con-densation cytoplasmique, et s'efface enfin totalement.

On doit souhaiter que des observations précises viennent bientôt combler les lacunes de cette évolution nucléaire et nous éclairer sur sa véritable signification et sa généralité.

On sait que le clivage cytoplasmique destiné à l'isolement des futures zoospores, commence tardivement, quand les divisions nucléaires sont à peu près achevées. Le mécanisme de fissuration progressive décrit par Harper dans *S. decipiens* n'est probablement pas le seul à intervenir. D'après les observations concordantes de Kusano et de Griggs, des cloisons cytoplasmiques peuvent apparaître, par con-densation ou précipitation interne au sein du cytoplasme, à la manière des cloisons endospermiques des Végétaux supérieurs.

II. Nos connaissances sur la sexualité des Chytridinées n'ont pas fait beaucoup de progrès, depuis la découverte de la reproduction sexuée de *Polyphagus Euglenae* par Nowakowski en 1876. C'est aussi le seul cas où les particularités cytologiques de la sexualité soient assez bien connues. La soit-disant reproduction sexuée des *Olpidiosis* et *Rhizidium* semble en effet dépourvue de toute validité.

Löwenthal¹⁾ a cependant décrit et figuré dans *Zygorhizidium Willei* des groupements cellulaires qui offrent toutes les apparences d'une copulation entre gamontes sexuellement différenciés; ce cas présente des analogies évidentes avec les faits déjà connus dans les *Polyphagus*.

Löwenthal a pu seulement constater la nature uninucléée des gamontes avant la fécondation; il n'a vu ni le transport du noyau mâle, ni la karyogamie sexuelle. Les zygotes mûrs n'ayant pas germé dans ses cultures, il n'a pas été possible de déterminer leur sort ultérieur.

Il est également possible que la sexualité s'exerce d'une manière toute différente chez d'autres Chytridinées. On pourrait supposer par exemple, que la formation des sores zoosporangies de *Synchytrium* représente une schizogonie, et la formation des kystes durables une gamogonie; mais le temps et le lieu de la fécondation restent encore

¹⁾ W. Löwenthal, Weitere Studien an Chytridiaceen. Arch. f. Protistenk., Bd. V. 1904.

à découvrir. Percival¹⁾ a bien observé une inégalité fréquente des zoospores issues d'un même kyste (gametic anisospores?), et suggère la possibilité d'une conjugaison consécutive; mais à aucun moment, il n'a pu saisir la moindre trace de ce phénomène.

Dans le même ordre d'idées, nous devons signaler les réflexions récentes de Chatton et Brodski²⁾, à l'occasion d'une révision comparative des parasites du cytoplasme et du noyau chez les Protistes. Appuyés sur les observations de Doflein, ils admettent la possibilité d'une gamogonie consécutive à la déhiscence des sporanges, et s'effectuant „dans le milieu extérieur par la conjugaison de deux spores“.

Il y aurait là un argument nouveau en faveur de l'autonomie du groupe des Chytridinées, et de son indépendance complète à l'égard des Champignons filamenteux.

III. On attribue généralement aux Chytridinées une place à part dans le monde des Etres inférieurs. La plupart des biologistes ont aujourd'hui renoncé à l'incorporation traditionnelle dans l'embranchement des Champignons. P. Vuillemin³⁾ ne s'est pas laissé convaincre par la dextérité de Lotsy⁴⁾, qui souligne lui-même la fragilité de son système, en observant que le groupe des Mycochytridiaceae est à peine naturel.

La séparation paraît tranchée, entre les Chytridinées et les Ancylistinées de Schröter; ces dernières offrent des affinités incontestables avec les Péronosporacées. P. Vuillemin se montre surtout résolument sceptique à la théorie monophylétique de Dangeard; on ne saurait admettre que les Chytridinées se trouvent sur la route qui conduit des Flagellés inférieurs aux Champignons proprement dits.

Ainsi dégagé d'un voisinage équivoque, et allégé par l'élimination de quelques formes d'authenticité douteuse, telles que *Hyphochytrium*, *Tetrachytrium*, *Zygochytrium*, le groupe des Chytridinées manifeste une homogénéité satisfaisante; il se laisse naturellement diviser en trois familles, Olpidiacées, Synchronytriacées, Rhizidiacées, nettement caractérisées par la morphologie de leurs appareils végétatifs, et par leur évolution reproductrice.

Les raisons invoquées par Vuillemin pour éliminer les *Pseudolpidium*, *Rozella* et *Woronina*, ne paraissent pas très convain-

¹⁾ J. Percival, Potato „Wart“ disease etc. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXV. 1909.

²⁾ E. Chatton et A. Brodski, Le parasitisme d'une Chytridinée du genre *Sphaerita* Dangeard chez *Amoeba limax* Dujard. Etude comparative. Arch. f. Protistenk., Bd. XVII. 1909.

³⁾ *Progressus rei botanicae*, Bd. II.

⁴⁾ Lotsy, Vorträge . . . usw., 1907, p. 117.

cantes. La présence d'un revêtement épineux à la surface des kystes ne saurait constituer un critérium décisif¹⁾; quant à la valeur différentielle du nombre des flagelles, elle est révoquée en doute par Lotsy; si l'on doit entrer dans cette voie, pourquoi ne pas tenir compte de la position du flagelle des Chytridinées monotriches pendant la locomotion?

On ne connaît, chez les Champignons proprement dits, rien d'analogue aux remarquables phénomènes cytologiques découverts dans les *Synchytrium*; des éléments de comparaison ne pourraient être trouvés que du côté des Sporozoaires; les rapprochements établis par Haeckel (*Systematische Phylogenie*) seraient ainsi confirmés.

Chatton et Brodski n'hésitent pas à rapprocher les Chytridinées des Néosporidies (Myxo- et Haplosporidies). Ils invoquent entre autres choses, l'analogie des altérations déterminées par ces divers parasites, qui exercent surtout des actions chimiques ménagées et se substituent à la cellule, ou à son noyau, sans modifications profondes de sa structure ou de son activité (sauf pour *Synchytrium*).

Löwenthal²⁾ et Doflein³⁾ se prononcent nettement contre les relations suggérées naguère par Dangeard entre le parasitisme des Chytridinées et l'évolution du cancer.

Rappelons aussi que le *Blastulidium paedophthorum*, parasite des Daphnies, avait été provisoirement rattaché par Ch. Pérez aux Haplosporidies; les recherches plus récentes de Chatton⁴⁾ l'ont conduit à rapprocher définitivement cet organisme des Chytridinées, dans le voisinage immédiat des *Olpidium*.

On admet généralement que les Chytridinées ont leur point de départ dans le monde des Flagellés primitifs, non loin de la souche des Sporozoaires; mais on n'ajoute guère de précision au débat en excipant de leur parenté originelle avec les Monadinées zoosporées, étant donné l'incertitude qui règne aujourd'hui sur ce petit groupe, fortement contesté dans sa valeur systématique et dans son existence même.

Parmi les Chytridinées inférieures, voisines des Monadinées, Dangeard signale ses deux genres *Sphaerita* et *Nucleophaga*, conduisant aux Olpidiacées.

Il n'est pas aussi certain que le genre *Harpochytrium* joue le même rôle à l'égard des Rhizidiacées; nous ne pouvons cependant

¹⁾ Dangeard, Recherches sur les organismes inférieurs. Ann. Sc. nat. Bot., Sér. 7 T. IV. 1896.

²⁾ Löwenthal, Weitere Studien usw., l. c. 1904.

³⁾ Doflein, Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. Arch. f. Protistenk., Suppl. I. 1907.

⁴⁾ E. Chatton, Sur la reproduction et les affinités du *Blastulidium paedophthorum* Ch. Pérez. Compt. rend. Soc. Biol., T. LXIV. 1908.

pas accepter l'opinion de N. Wille¹⁾, qui l'incorpore parmi les Algues Protococcacées, à titre de forme incolore; il en avait fait d'abord le type d'une famille distincte (Harpochytriaceae) qu'il ramène maintenant au rang de simple tribu (Harpochytriae) dans la famille des Rhodochytriaceae.²⁾

Appendice. — Nous réunissons ici un certain nombre de formes intéressantes, déjà connues depuis plus d'un demi-siècle, mais dont l'étude approfondie n'a guère été reprise que dans ces dernières années.

Tel est le genre *Amœbidium*, dont Cienkowski a donné, dès 1861, une bonne description, résumée en 1889³⁾ par J. Schröter dans l'Encyclopédie botanique d'Engler et Prantl.

Ce curieux organisme, représenté par plusieurs espèces généralement épiphytes ou commensales des Daphnies, et de divers autres Arthropodes aquatiques, mérite sûrement d'être classé parmi les Protistes végétaux; Chatton⁴⁾ a démontré récemment la nature cellulosique de sa membrane, et la nature callosique du disque adhésif, fixé à la paroi du corps de l'hôte. Chatton a décrit aussi le noyau, limité par une membrane, et dont la chromatine est presque entièrement condensée en un karyosome central; il a distingué deux modes de reproduction, la sporulation et l'enkystement.

La sporulation diffère d'une schizogonie normale, en ce que la multiplication préalable des noyaux se produit au cours de la croissance et non lors de son achèvement. L'enkystement s'en distingue surtout par l'interposition d'un stade amibe précédant la formation des kystes dont l'évolution ultérieure est mal connue.

Les Eccrinides, découverts en 1849 par Leidy, n'en sont probablement pas très éloignés. L'étude monographique de ce groupe remarquable, composé de genres et espèces nombreux, tous parasites des Arthropodes aquatiques, a été récemment entreprise par Léger et Duboscq.⁵⁾

¹⁾ N. Wille, Harpochytriae, in Engler et Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. Nachträge zum I. Teil. 1909.

²⁾ L'Harpochytrium Hedenii Wille (= Rhabdium Hedenii Dangeard) dont la synonymie a été lumineusement établie par G. F. Atkinson [The Genus Harpochytrium in the United States, in Ann. Mycologici, Vol. I, 1903], est très abondant à Montpellier sur divers Spirogyra pendant l'hiver. Il correspond parfaitement aux dessins d'Atkinson, tandis que ceux de Dangeard ne donnent pas une idée assez précise de la forme, des dimensions et de la situation du soit-disant suçoir, qui n'est peut-être qu'un bouton fixateur, analogue à l'expansion basale des Amœbidium.

³⁾ Et non en 1897 comme dit Chatton.

⁴⁾ E. Chatton, La biologie, la spécification et la position systématique des Amœbidium. Arch. Zool. exp. et gén., Sér. 4 Vol. V. 1906. — La morphologie et l'évolution de l'Amœbidium recticola, nouvelle espèce commensale des Daphnies. Ibid.

⁵⁾ L. Léger et O. Duboscq, Les Eccrinides, nouveau groupe de Protophytes parasites. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLII. 1905. — L'Evolution des Eccrina des Glomeris. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLII. 1906.

On reconnaît aisément que les Eccrinides sont beaucoup plus hautement différenciés que les *Amœbidium*, au moins par le cycle de leur évolution individuelle.

Dans les cas les plus simples, par exemple dans les *Arundinula*, du tube digestif des Pagures, le parasite filiforme, raide comme un crin, fixé par une dilatation cuticulaire de son extrémité proximale, possède divers moyens de reproduction.

Par la formation de spores (microspores uninucléées, macrospores plurinucléées), le parasite assure sa propagation dans le Pagure envahi. La formation de spores durables, très résistantes, se produisant au moment des mues de son hôte, assure d'autre part la contagion.

La plupart des spores durables sont de véritables oospores, ou zygotes, résultant d'une autogamie précédée de réduction ou d'épuration nucléaire.

*Amœbidium*¹⁾ et Eccrinides paraissent unis par des liens de parenté étroite, mais leur place définitive dans le Système reste encore à déterminer. Leur nature végétale étant admise, on ne peut guère les rapprocher que des Chytridinées, qui offrent également, nous l'avons vu, d'incontestables affinités avec les Sporozoaires.

Phytomonadina.

(Volvocineae.)

Dans l'ouvrage magistral où Oltmanns a exposé l'état de nos connaissances sur les Algues, les spéculations phylogénétiques occupent une place restreinte, et sont reléguées dans le second volume, consacré aux généralités.

Nous y trouvons, brièvement résumées, les idées de l'auteur sur la véritable nature des Volvocinées (Volvocales), et sur leurs affinités généalogiques.

Pour Oltmanns, le caractère végétal des *Volvox* ne fait aucun doute, et les Chlamydomonadacées elles-mêmes sont sûrement des Algues. Les Polyblépharidacées, dépourvues de membrane définie, et douées d'une mobilité métabolique étendue, se rapprochent plutôt des Flagellés proprement dits, et pourraient être aussi bien détachés des Algues.

Lotsy s'est entièrement rallié à cette manière de voir et considère les *Pyramimonas*²⁾ comme étant simplement, parmi les

¹⁾ E. Chatton et E. Roubaud, Sur un *Amœbidium* du rectum des larves de Simulies. Comptes Rendus Soc. Biol., T. LXVI. 1909.

²⁾ *Pyramidomonas*?

Flagellés, la forme la plus voisine des ancêtres présumés des Isokontes, c'est à dire des Volvocinées et autres Algues inférieures.

Dans sa révision récente des Chlorophycées de l'Encyclopédie d'Engler et Prantl, N. Wille¹⁾ maintient les Polyblépharidées parmi les Volvocinées (Volvocacées). Les *Dunaliella*, aujourd'hui bien connus par les observations de Clara Hamburger²⁾ et de Theodoresco³⁾ présentent assurément de remarquables analogies avec les *Chlamydomonas* et les formes voisines, mais l'absence de membrane et de vacuoles contractiles ne permettent pas d'affirmer l'existence de relations étroites entre ces deux catégories d'organismes.

Chlamydomonadacées et Volvocacées, forment un ensemble homogène correspondant à des modalités différentes d'un même type fondamental, manifesté dans les traits essentiels de leur morphologie et de leur cytologie.

Le genre *Haematococcus* est le mieux connu parmi les Chlamydomonadacées, grâce aux recherches approfondies de W. Wollenweber⁴⁾, Florence Peebles⁵⁾, et E. Reichenow.⁶⁾

On ne sait encore rien de précis sur la constitution chimique de la membrane dont la couche périphérique ne donne pas les réactions de la cellulose, et dont la zone interne gélatineuse paraît réfractaire à l'action de tous les colorants.

Le cytoplasme périphérique contient un vaste chromatophore en coupe profonde ou en poire creuse, formé par un système complexe de travées et de cloisons chlorophylliennes, associées en un réseau continu dont les mailles sont occupées par le cytoplasme.

Hugo Merton⁷⁾ a décrit d'une manière analogue le chromatophore des cellules de *Pleodorina illinoisensis*: il se compose de fines lamelles chlorophylliennes, orientées radiairement et anastomosées, possédant généralement un pyrénoloïde aux nœuds d'anastomose.

¹⁾ N. Wille, *Conjugatae und Chlorophyceae*. 1909.

²⁾ Clara Hamburger, *Zur Kenntnis der Dunaliella salina und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari*. Arch. f. Protistenk., Bd. VI. 1905.

³⁾ E. C. Theodoresco, *Organisation et développement du Dunaliella*, nouveau genre de Volvocacée Polyblépharidée. Beihefte zum bot. Centralbl., Bd. XVIII. 1905. — Observations morphologiques et biologiques sur le genre *Dunaliella*. Revue gén. Bot., T. XVIII. 1906.

⁴⁾ W. Wollenweber, *Untersuchungen über die Algengattung Haematococcus*. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXVI. 1908.

⁵⁾ Fl. Peebles, *The life history of Sphaerella lacustris*. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXIV. 1909.

⁶⁾ E. Reichenow, *Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten*. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XXXIII. 1909.

⁷⁾ H. Merton, *Über den Bau und die Fortpflanzung von Pleodorina illinoisensis*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XC. 1908.

Pleodorina possède aussi, d'après H. Merton, comme la plupart des Volvocinées, deux vacuoles contractiles antérieures, qui avaient échappé à C. A. Kofoid. Le nombre de ces organes paraît être beaucoup plus grand chez les *Haematococcus*, et s'élève à 60 environ dans *H. Droebakensis* d'après Wollenweber. Leur existence est toujours difficile à mettre en évidence, car elles échappent à l'action de tous les fixateurs, même les plus subtils comme l'acide osmique.

Une variabilité analogue s'observe dans le nombre des pyrénoides; ces corps énigmatiques, généralement entourés d'une coque amylacée, sont en nombre unique dans les cellules de *Volvox*; il y en a deux dans *Stephanosphaera*, dans *Haematococcus Droebakensis*, etc.; le nombre est plus élevé dans *Pleodorina*, dans *Haematococcus pluvialis*, etc.

Les inclusions cytoplasmiques les plus caractéristiques sont les corpuscules métachromatiques (rote Körnchen, Volutinkörner), observés dans *Chlamydomonas*, *Haematococcus*, *Polytoma*, *Pandorina*, *Pleodorina*, etc. Ils ont été soumis par Reichenow à une investigation microchimique attentive; il pense y avoir confirmé la présence des acides nucléiques, et leur attribue le rôle de substances de réserve à l'égard du noyau.

Reichenow a également étudié avec soin le principe colorant rouge, l'haematochrome des *Haematococcus* et des Euglènes. Il a pu établir que le pigment rouge est d'autant plus abondant que le milieu nutritif est pauvre en Azote. Avec moins d'intensité, le Phosphore paraît jouer un rôle analogue à l'Azote. Mais Reichenow n'a pu arriver à aucune conclusion précise quant à l'origine et au rôle de l'haematochrome dans la cellule.

Le noyau paraît avoir toujours la même structure. Il comprend une membrane mince, un réticulum achromatique avec granules chromatiques en nombre variable, et un volumineux karyosome dans lequel la majeure partie de la chromatine paraît condensée au repos.

La division cellulaire est toujours longitudinale. Lorsqu'elle paraît oblique ou transversale, il s'agit en réalité d'une déviation ou d'une rotation plus ou moins prononcée du corps cellulaire sous la membrane: l'axe de division est ainsi transporté dans une direction oblique ou perpendiculaire à la direction primitive. Reichenow décrit avec une grande netteté le mécanisme de ce déplacement dans la division végétative d'*Haematococcus pluvialis*, et le justifie pour cette espèce et pour les *Chlamydomonas*, par des nécessités géométriques d'économie (espace minimum).

Nous devons aussi à Reichenow des renseignements étendus sur la division nucléaire, toujours mitotique, qui précède les divisions cellulaires. L'entrée en mitose est annoncée par une vacuolisation du karyosome, dont la chromatine émigre dans le réticulum nucléaire. Le karyosome disparaît ainsi, et la chromatine s'accumule surtout à

la périphérie du noyau où s'organisent probablement les chromosomes. La suite de la prophase n'a pu être exactement observée; l'on ignore comment se constituent le fuseau et la plaque équatoriale qui apparaissent rapidement. La métaphase et l'anaphase n'offrent rien de particulier. Le nombre des chromosomes paraît être de 32 dans *H. pluvialis*; il serait seulement de 12 environ dans *Pleodorina* d'après H. Merton.

Merton et Reichenow n'ont pu distinguer aucune trace de centrosome. A la télophase, une condensation de chromatine se produit vers les deux pôles fusoriaux, probablement dans le but de reconstituer les karyosomes des noyaux fils.

Le mécanisme de la division cellulaire paraît être toujours le même, qu'il s'agisse de la multiplication d'individus isolés, comme dans les Chlamydomonadacées, ou de la formation de colonies définies, comme dans les Volvocacées.

La gamogonie est maintenant connue chez la plupart des Volvocinées. H. Merton l'a découverte dans le *Pleodorina*, où elle avait échappé à Kofoid. Elle y présente d'étroites ressemblances avec celle des *Eudorina*.

Les colonies de *Pleodorina* sont unisexuées, mais toutes les cellules de la colonie interviennent dans l'évolution sexuelle, sauf les 4 cellules somatiques du pôle antérieur. Dans les colonies mâles, les 28 cellules génératrices deviennent autant de gamétocytes contenant 64 ou 128 microgamètes associés en plaque fasciculée comme dans *Eudorina*. Dans les colonies femelles, les 28 cellules génératrices se transforment directement en macrogamétocytes, sans modifications notables. H. Merton n'a pu distinguer aucune trace des phénomènes de maturation (Reifungsteilungen) qu'Hartmann¹⁾ prétend avoir constaté chez les *Volvox*.

La fécondation s'accomplit comme celle des *Eudorina*, à l'intérieur de la colonie maternelle; chaque copula se transforme en un zygote, bientôt revêtu d'une membrane épaisse, lisse et opaque.

Les travaux récents n'ont pas jeté une lumière définitive sur la sexualité des *Haematococcus*. Wollenweber déclare qu'*H. pluvialis* se reproduit uniquement par agamogonie. Reichenow considère comme ayant la valeur de gamètes les „microgonidies“ observées par divers auteurs, mais il n'a jamais pu assister à leur copulation.

D'après Florence Peebles, la copulation d'*H. pluvialis* s'observe facilement à la suite de la germination des kystes desséchés puis humectés d'eau et soumis à une insolation intense ou à la lumière électrique. Le contenu des kystes se divise en 8, 16, 32 et parfois 64 petits éléments biflagellés qui s'unissent deux à deux par le pôle

¹⁾ Hartmann, Die Fortpflanzungsweise der Organismen. Biol. Centralbl., Bd. XXIV. 1904.

antérieur et se fusionnent en quelques minutes. Ils produisent ainsi des copulas sphériques, bientôt revêtues d'une membrane protectrice. En l'absence de renseignements cytologiques, il n'est pas possible d'apprécier la portée réelle de ces phénomènes.

Dinoflagellata.

(Peridinales.)

Les Peridinales semblent former un ordre assez naturel, et nettement individualisé dans le monde des Flagellés; mais les deux familles principales qui le composent, Péridiniacées et Gymnodiniacées présentent cependant des différences assez étendues pour qu'il soit nécessaire de les envisager ici séparément.

Péridiniacées. — Nous réunissons sous ce nom tous les Dinoflagellés à deux flagelles, protégés par un test articulé et ponctué, dont les formes diverses interviennent presque exclusivement dans la distinction des genres et des espèces.

Cette remarquable carapace¹⁾ a été l'objet d'investigations nombreuses. Franz Schütt en a donné, il y a 15 ans, une description analytique très complète et très minutieuse. Mangin²⁾ a confirmé les données acquises sur la composition chimique du test, et montré qu'elle répond aux réactions considérées par lui comme caractéristiques de la cellulose.

D'autre part les spécialistes s'efforcent sans cesse de perfectionner le système de numération introduit par Bütschli pour établir commodément la „formule“ caractéristique et le dénombrement des plaques du test des *Ceratium*, *Peridinium* etc. Le procédé préconisé par Kofoid³⁾ présente, en raison de la simplicité et de la généralité de son application une supériorité manifeste sur tous les systèmes analogues.

Les connaissances sur l'organisation interne et sur l'évolution individuelle des Péridiniacées n'ont pas réalisé de grands progrès

¹⁾ Voir E. Werner, Der Bau des Panzers von *Ceratium hirundinella*. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIII. 1910.

²⁾ Mangin, Sur la membrane des Péridiniens. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLIV. 1907.

³⁾ C. A. Kofoid, The plates of *Ceratium* with a note on the unity of the genus. Zool. Anz., Bd. XXXII. 1907. — On *Peridinium Steinii* Jörgensen, with a note on the nomenclature of the skeleton of the Peridinidae. Arch. f. Protistenk., Bd. XVI. 1909. — Voir aussi: E. Fauré-Frémiet, Etude descriptive des Péridiniens etc. de la baie de la Hougue. Ann. Sc. Nat. Zool., Sér. 9 T. VII. 1908.

depuis quinze ans. Cela tient à l'extrême difficulté du sujet, et à l'impossibilité presque absolue de conserver vivants ces organismes fragiles, pendant assez longtemps pour exécuter quelques observations fructueuses; les compilateurs modernes les mieux informés, Oltmanns, Lotsy, Doflein, en sont réduits à reproduire, sans adjonctions notables, les renseignements contenus dans la monographie classique de Fr. Schütt.

Les rapports du corps protoplasmique vivant avec la carapace sont depuis quelques années l'objet d'études méthodiques de la part de C. A. Kofoïd.¹⁾ Il désigne sous le nom d'„ecdysis“, ou „cytecdysis“ le mécanisme physiologique par lequel l'organisme se dépouille entièrement de son ancienne carapace, sous l'influence de certaines conditions, externes ou internes.

On sait, par exemple, que l'ecdysis est la règle chez les *Gonyaulax* capturés vivants dans les pêches pélagiques; au bout de très peu de temps, ils abandonnent leur test pour s'enkyster dans une membrane plus ou moins épaisse, et sous une forme souvent très différente de la forme d'activité.

L'ecdysis accompagne normalement la sporulation (ou schizogonie?) chez les *Pyrophacus*, *Diplopsalis* etc.

L'ecdysis totale, sans schizogonie, se produit surtout chez les espèces qui abandonnent entièrement le test maternel pendant la bipartition ou la sporulation.

L'exuviation serait alors un mécanisme de rénovation partielle de certaines plaques anciennes vieilles, transmises de génération en génération pendant la scissiparité oblique, chez les *Ceratium*, *Peridinium* etc. Le nombre des faits observés est trop restreint pour qu'il soit encore possible de se prononcer sur l'authenticité et sur l'importance de ce phénomène. Un cas analogue aurait été observé par H. Péragallo chez une Diatomée méroplanktonique, le *Biddulphia mobiliensis*.²⁾

Le noyau des Péridiniacées, toujours très volumineux, paraît avoir une structure assez variée, susceptible de se modifier suivant les espèces et suivant les étapes du développement.

La structure alvéolaire, avec granules de chromatine aux nœuds du réseau, primitivement décrite par Bütschli et par Lauterborn, a été retrouvée par L. Plate³⁾, par Géza Entz⁴⁾ jun. et par

¹⁾ C. A. Kofoïd, Exuviation, Autotomy and Regeneration in *Ceratium*. University of California Publications in Zoology, Vol. IV. 1908.

²⁾ H. Péragallo, Sur la division cellulaire du *Biddulphia mobiliensis*. Bulletin de la Station biologique d'Arcachon, Année 10. 1907.

³⁾ L. Plate, *Pyrodinium bahamense*, n. g. n. sp. Arch. f. Protistenk., Bd. VII. 1906.

⁴⁾ Géza Entz jun., Über die Organisationsverhältnisse einiger Peridineen. Math. u. Naturwiss. Berichte aus Ungarn, Bd. XXV. 1907.

Victor Jollos.¹⁾ Ce dernier signale l'existence d'un corpuscule colorable particulier, différent des nucléoles de plastine déjà décrits par Lauterborn. Il s'agit probablement d'un centriole, ou plutôt d'un nucléolocentrosome, qui se divise en deux pendant la bipartition nucléaire; les deux moitiés demeurent quelque temps réunies par une „centrodesmose“ caractéristique.

Géza Entz a également observé des noyaux dont la chromatine était disposée en cordons parallèles, conformément à la description de Schütt. Parmi ces bâtonnets chromatiques, quelques-uns présentaient une fissuration longitudinale.

Chez les Péridiniens adultes, les flagelles ne sont probablement pas en rapport direct avec le noyau, mais Géza Entz a vu à la base des flagelles de *Gonyaulax polygramma* un corpuscule arrondi qui est probablement un granule basilaire. D'autre part Jollos constate que l'ébauche des flagelles est intranucléaire, comme dans les *Gymnodinium* dont nous parlerons plus loin, et que le nucléolocentrosome joue à cet égard un rôle prépondérant.

On ne sait encore presque rien sur le cycle évolutif et le mode de reproduction des Péridiniacées.

Zederbauer²⁾ a décrit naguère une soit-disant reproduction sexuée de *Ceratium Hirundinella*, aboutissant à la formation de zygospores. Géza Entz croit avoir observé les mêmes phénomènes; mais il est en contradiction avec Zederbauer sur le mode d'accouplement, et interprète autrement les phénomènes consécutifs. Pendant la conjugaison, l'un des gamontes transmet son noyau à son conjoint, et périt ensuite. Le cytoplasme du second gamonte, ainsi muni de deux noyaux entre lesquels aucune karyogamie n'a été constatée, abandonne son test et se transforme en une sorte de kyste dont le sort ultérieur est inconnu.

Victor Jollos a également constaté l'existence de kystes chez les *Ceratium*, mais il leur attribue une toute autre origine. Il s'agit seulement, à son avis, d'une sorte d'ecdysis totale, accompagnée de la formation d'une épaisse membrane, capable de protéger l'organisme jusqu'au moment du réveil de la végétation.

Les observations faites par Paulsen³⁾ sur *Ceratium lineatum* et par C. Apstein⁴⁾ sur *Ceratium tripos forma subsalsa*, entrent pro-

¹⁾ V. Jollos, Dinoflagellatenstudien. Arch. f. Protistenk., Bd. XIX. 1910.

²⁾ E. Zederbauer, Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung von *Ceratium Hirundinella*. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXII. 1904.

³⁾ O. Paulsen, Plankton Investigations in the waters round Iceland and in the north Atlantic in 1904. Meddel. fra Komm. f. Havunders. S. Plankton, Bd. I. 1909.

⁴⁾ C. Apstein, Knospung bei *Ceratium*. Intern. Revue f. d. ges. Hydrol. u. Hydrogr., Bd. III. 1910. — Biologische Studie über *Ceratium tripos* var. *subsalsa* Ostenfeld. Wiss. Meeresunters., Abt. Kiel, N. F., Bd. XII. 1910.

bablement dans le même ordre d'idées; ici l'ecdysis est souvent incomplète, et le corps protoplasmique, à moitié évadé, se trouve maintenu dans un sac membraneux adhérent à l'aréa ventrale du test. Apstein a observé dans quelques cas une division amitotique du noyau, qui pourrait être l'indice d'une sexualité encore énigmatique.

Apstein a encore découvert, dans les *Ceratium* de la Baltique, des phénomènes très curieux de bourgeonnement qui jettent un jour imprévu sur la question délicate du polymorphisme et de la variabilité des Péridiniens.

Le phénomène débute par une division amitotique du noyau. L'un des noyaux-fils est évacué avec une petite masse de cytoplasme, mais demeure dans le sillon longitudinal ventral. L'ensemble grossit, et s'entoure bientôt d'un test complet de *Ceratium tripos*. Mais au lieu de constituer un *C. tripos* typique, il revêt une forme nouvelle. Apstein a ainsi trouvé des individus entièrement semblables aux variétés déjà décrites par Lohmann¹⁾ sous les noms de *forma lata* et *f. truncata*.

Apstein adopte l'interprétation générale de Lohmann, qui a considéré ces diverses formes comme des variations saisonnières (Temporalvariation, Saisonpolymorphismus); il n'est pas impossible, à son avis, que le bourgeonnement constitue une sorte de rajeunissement, en rapport avec une reproduction sexuelle encore à découvrir.

Lohmann avait signalé et figuré en 1908, des associations hétéromorphes, c'est à dire des chaînes de *Ceratium* composées d'individus différents entre eux, susceptibles d'être rapportés à des „formes“ distinctes. Kofoid²⁾ a étudié minutieusement deux chaînes de *Ceratium*, récoltées dans le Pacifique (comprenant respectivement 4 et 2 individus); elles sont composées d'individus si différents que Kofoid les attribue à des espèces très éloignées.

Malgré la maigreur du matériel observé, il n'hésite pas à considérer ces exemples d'hétéromorphisme comme de véritables cas de mutation, intervenant en dehors de toute sexualité, et probablement déterminés par des changements brusques dans les conditions du milieu ambiant. Apstein s'élève contre cette interprétation en raison des faits nouveaux observés dans le bourgeonnement. D'autre part, il est parfaitement possible que les chaînes hétéromorphes de Kofoid représentent de simples cas tératologiques, en rapport avec les mutilations, spontanées ou accidentelles, éprouvées par l'un des individus de chaque chaîne.

¹⁾ Lohmann, Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. Wiss. Meeresunters., N. F., Abt. Kiel, Bd. X. 1908.

²⁾ C. A. Kofoid, Mutations in *Ceratium*. Bull. of the Museum of Comp. Zool. at Harvard College, Vol. LII. 1909.

Gymnodiniacées. — Famille nombreuse, et probablement hétérogène, qui s'étend depuis les *Erythroopsis* ¹⁾ et les *Polykrikos* ²⁾, jusqu'aux *Pyrocystis* et aux Blastodinides. Les uns sont autotrophes, pélagiques, à la manière des Péridiniacées; d'autres sont dépourvus de chromatophores et saprophytes, comme l'intéressant *Gymnodinium fucorum*, cultivé par E. Küster ³⁾ sur différents milieux nutritifs où se manifestent des anomalies curieuses de forme et de développement. D'autres enfin sont parasites, comme les Blastodinides des Copépodes etc. . . .

Ces derniers sont rattachés provisoirement aux Gymnodiniacées parce qu'ils présentent, au cours de leur évolution, une phase de mobilité sous la forme de petits organismes biflagellés très analogues aux vrais *Gymnodinium*.

V. Jollos ⁴⁾ a fourni récemment quelques renseignements sur l'organisation interne de *G. fucorum*, ou d'une espèce très voisine, également dépourvue de chromatophores.

Le noyau, assez volumineux, présente une structure alvéolaire typique avec granulations chromatiques éparses. Il contient un assez gros karyosome dans lequel est inclus un centriole nettement individualisé. Ce centriole joue un rôle prépondérant dans la division nucléaire, qui est une sorte de mitose primitive comparable à celle des *Adelea*. Au moment de la division, deux centrioles (préformés au repos?) s'écartent notablement l'un de l'autre, mais demeurent longtemps réunis par un cordon colorable (centrodesmose); le reste du karyosome et du corps nucléaire se fractionne en deux moitiés à peu près égales, par simple étranglement transversal.

Le centriole (et le karyosome) intervient encore dans la genèse des flagelles; par fragmentations successives, suivies de migration intracytoplasmique d'une partie de ses fragments, il engendre les diverses parties de l'organe locomoteur, c'est à dire le flagelle proprement dit, la fibrille intermédiaire (rhizoplaste) et le granule basilaire (condyle de Dangeard).

L'existence d'un „stade gymnodinium“ paraît fréquente chez les organismes pélagiques. K. Brandt l'a signalé naguère chez les Radiolaires.

Laackmann ⁵⁾ avait retrouvé les formes *Gymnodinium* chez les

¹⁾ J. Pavillard, Recherches sur la Flore pélagique (Phytoplankton) de l'Etang de Thau. Montpellier 1905.

²⁾ C. A. Kofoed, The Structure and Systematic Position of Polykrikos Bütschli. Zool. Anz., Bd. XXXI. 1907.

³⁾ E. Küster, Eine kultivierbare Peridinee. Arch. f. Protistenk., B. XI. 1908.

⁴⁾ V. Jollos, Dinoflagellatenstudien. Arch. f. Protistenk., Bd. XIX. 1910.

⁵⁾ H. Laackmann, Ungeschlechtliche und geschlechtliche Fortpflanzung der Tintinnen. Wiss. Meeresunters., N. F., Abt. Kiel, Bd. X. 1906.

Tintinnoïdes et les avait considérées comme les gamètes de ces Infusoires; mais Lohmann¹⁾ a fait ressortir l'in vraisemblance de cette interprétation, et soutient qu'il s'agit d'un stade mobile de quelque *Gymnodinium* parasite des Tintinnoïdes.

L'évolution des Gymnodiniacées libres est à peu près inconnue. V. Jollos a vu apparaître brusquement, dans de vieilles cultures de *G. fucorum*, une population très nombreuse et très prolifique de petits organismes biflagellés; au bout de quelques semaines ils se sont transformés progressivement en *Gymnodinium* typiques; mais on ne sait rien de plus sur leur valeur morphologique et sur les causes de leur apparition.

On est mieux renseigné sur l'évolution de quelques Gymnodiniacées (?) parasites, grâce aux recherches de Dogiel²⁾ et de Chatton.³⁾

Le *Gymnodinium roseum* Dogiel est parasite des œufs de Copépodes. Il en sort par un orifice arrondi et se transforme en une vésicule volumineuse dont le contenu se divise en 2, 4, 8 et 16 kystes secondaires ou „sporoblastes“. Ces sporoblastes ont une membrane transparente et un noyau typique de Dinoflagellé, avec chromatine fibreuse en nombreux cordons plus ou moins parallèles. Ce noyau se divise chaque fois par une sorte de promitose simple en haltère. Le contenu de chaque sporoblaste est finalement mis en liberté sous la forme de 4 corps flagellés mobiles, représentant un stade *Gymnodinium*, dont l'évolution ultérieure est inconnue.

Les Blastodinides, découverts par Chatton, parasites ou commensaux de divers Métazoaires pélagiques (Copépodes, Appendiculaires), se rattachent aux précédents par la structure de leur noyau et par leur évolution reproductrice. Ici le corps se divise en deux blastocytes hétérodynames; l'un recommence le cycle végétatif, l'autre se divise en un certain nombre de kystes de plus en plus petits. Après leur libération, ces kystes (sporocystes ou sporoblastes?) se transforment en petits Gymnodiniens à deux flagelles, dont l'évolution ultérieure est inconnue.

Ce développement présente de remarquables analogies avec celui de certaines Pyrocystées observées presque simultanément par Apstein⁴⁾ et par Dogiel.

¹⁾ Lohmann, Untersuchungen usw., l. c. 1908.

²⁾ V. Dogiel, Beiträge zur Kenntnis der Peridineen. Mitteil. zool. Station Neapel, Bd. XVIII. 1906.

³⁾ E. Chatton, Les Blastodinides, ordre nouveau de Dinoflagellés parasites. Comptes Rendus Acad. Sc. Paris, T. CXLIII. 1906. — Nouvel aperçu sur les Blastodinides (*Apodinium mycetoides* n. g. n. sp.). Ibid., T. CXLIV. 1907. — Note préliminaire sur trois formes nouvelles du genre *Blastodinium* Chatton. Bull. Soc. Zool. France, T. XXXIII. 1908.

⁴⁾ C. Apstein, Pyrocystis lunula und ihre Fortpflanzung. Wiss. Meeresunters., N. F., Abt. Kiel., Bd. IX. 1906.

Le premier stade observé est représenté par une cellule sphérique volumineuse (*Pyrocystis lunula forma globosa* Apstein), avec membrane épaisse, chromatophores jaunâtres nombreux, et gros noyau à chromatine plus ou moins fibreuse. Le contenu se divise progressivement en 2, 4 et 8 kystes allongés, recourbés en croissant, et bientôt libérés par la rupture de la membrane primitive (*P. lunula forma lunula*). Dans chaque croissant le contenu cytoplasmique se divise en 2, 4 et finalement 8 masses uninucléées bientôt transformées en petits *Gymnodinium* typiques, dont l'évolution ultérieure est inconnue.

Devant l'imperfection de nos connaissances relatives à l'ensemble du groupe des Péridiniales, toute discussion concernant les affinités systématiques et l'origine phylogénétique de ces organismes est évidemment prématurée.

Bacillariales.

(Diatomaceae.)

De tout temps les Diatomées ont sollicité l'attention des curieux de la nature; mais plus que tout autre, sans doute, ce groupe a bénéficié de l'impulsion exercée sur l'étude des Etres inférieurs par l'épanouissement simultané de la Cytologie, de la Planktologie et de l'Hydrographie biologique. Bien des naturalistes, naguère occupés de problèmes tout différents, ont été attirés par les agréments particuliers de cette recherche; et les Diatomistes spécificateurs, longtemps hypnotisés par les carapaces, se sont essayés, non sans succès, à des besognes de biologistes et de cytologistes.

La cellule des Diatomées est caractérisée avant tout par sa membrane, dont la structure moléculaire et la composition chimique paraissent très différentes de celles de tous les autres végétaux.

On admet généralement qu'elle comprend une trame organique plus ou moins intimement unie à une combinaison indéterminée du Silicium. Partant de là, Mangin¹⁾ a essayé récemment d'élucider la nature de la trame organique fondamentale. Il a reconnu qu'elle est entièrement inerte à l'égard des teintures considérées par lui comme spécifiques de la cellulose et de la callose; au contraire, après un traitement approprié, la membrane se colore électivement par le Rouge de Rhuténium, le Bleu de méthylène, etc. Elle donne donc, d'après Mangin, les réactions colorées caractéristiques des matières pectiques.

¹⁾ L. Mangin, Observations sur les Diatomées. Ann. Sc. Nat. Bot., Sér. 9 T. VII. 1909.

La technique nouvelle, introduite par Mangin a révélé d'intéressantes particularités morphologiques dans la membrane de diverses Diatomées pélagiques. Ainsi *Bacteriastrium varians*, *Chaetoceros teres*, et autres espèces, présentent une annulation latérale comparable à celle des *Guinardia* ou des *Dactyliosolen*. Le *Peragallia meridiana* Schütt, retrouvé en chaînes pluricellulaires par Okamura¹⁾, cesse de représenter un cas isolé non loin des *Chaetoceros*, mais appartient dorénavant au même type générique que les *Chaetoceros* annelés.

L'organisation de la valve des Raphidées a été soumise à une révision minutieuse par Heinzerling.²⁾ D'après lui le Raphé est une véritable fissure traversant toute l'épaisseur de la membrane et ouverte de part et d'autre, en dedans aussi bien qu'au dehors; il simplifie la description ancienne d'Otto Müller, sur le mode de communication des deux moitiés du raphé à travers le nodule central, mais accepte généralement l'opinion de Müller au sujet des nodules terminaux. L'argumentation de Heinzerling est vivement attaquée par Müller³⁾, qui maintient intégralement ses vues antérieures, déjà classiques, concernant la structure de la valve et le mécanisme de la locomotion des Raphidées.

Le mode de croissance de la membrane n'est pas définitivement élucidé. On sait que F. Schütt a posé nettement le principe (entrevu par Bütschli?) de la croissance par apposition centrifuge, résultat de l'activité d'une couche cytoplasmique externe, le Plasma extramembraneux (extramembranöses Plasma). Cette importante question, effleurée ici même par Strasburger⁴⁾, intéresse particulièrement les Périдиниens et les Diatomées.

L'existence d'un cytoplasme extramembraneux n'est généralement pas contestée chez les Périдиниens; d'après Kofoid⁵⁾, la croissance du test est probablement due à une apposition centrifuge réalisée par ce cytoplasme externe, échappé par les pores de la carapace.

G. Karsten⁶⁾ n'émet aucun doute au sujet de la présence d'une mince pellicule de cytoplasme extramembraneux; il se demande

¹⁾ K. Okamura, Some Chaetoceras and Peragallia of Japan. Bot. Mag. Tokyo, Vol. XXI. 1907.

²⁾ O. Heinzerling, Der Bau der Diatomeenzelle mit besonderer Berücksichtigung der ergastischen Gebilde und der Beziehung des Baues zur Systematik. Bibliotheca bot., Heft 69. 1908.

³⁾ O. Müller, Die Ortsbewegung der Bacillariaceen VII. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII. 1909.

⁴⁾ Progressus rei botanicae, Bd. I.

⁵⁾ C. A. Kofoid, Exuviation, Autotomy and Regeneration in Ceratium. Univers. of California Public. in Zoology, Vol. IV. 1908.

⁶⁾ G. Karsten, Das Indische Phytoplankton. Wiss. Ergebn. d. deutschen Tiefseeeexpedition. 1907.

seulement si l'activité morphogénique de cet „Außenplasma“ ne donne pas des garanties de régularité fonctionnelle inférieures à celles du cytoplasme interne de la cellule.

Pour les Diatomées, les conditions sont différentes. Après une critique remarquablement impartiale des exemples et des arguments invoqués par Schütt, G. Karsten arrive à cette conclusion, que les Coscinodiscées pélagiques, *Planktoniella*, *Valdiviella* et *Gossleriella* sont les seules Diatomées actuelles où l'activité morphogénique d'un cytoplasme extramembraneux soit démontrée avec certitude; partout ailleurs, l'intervention d'un cytoplasme externe lui paraît inutile.

L'organisation du noyau et du centrosome, leurs modifications de forme, de structure et de situation pendant la karyokinèse et la division cellulaire, sont bien connues grâce aux recherches classiques de Lauterborn et de G. Karsten, déjà résumées ici même par Strasburger.¹⁾

Heinzerling a pu seulement confirmer les résultats de ses prédécesseurs, et constater (contrairement à Mitrophanow) que la division nucléaire est toujours mitotique; il n'a pu trouver aucun cas d'amitose.

Il semble résulter d'un travail récent de H. Pérageallo²⁾, que l'organisation et la division du noyau ne correspondent pas toujours au plan fondamental établi par Lauterborn. *Biddulphia mobiliensis* et *Cerataulus laevis* auraient un noyau plus ou moins semblable à celui des *Spirogyra*, avec karyosome central jouant le rôle de nucléolo-centrosome pendant la mitose; mais le vocabulaire spécial, assez étrange, de l'auteur ne permet guère d'enregistrer ses résultats, jusqu'à plus ample informé.

Les chromatophores ont été étudiés avec beaucoup de soin par Mereschkowsky³⁾, et répartis en trois catégories d'après leur forme en plaque, en ruban, ou en granules. La forme est souvent caractéristique pour certains genres, mais, d'après Mereschkowsky, l'ancienne division en Placo- et Coccochromaticae de Pfitzer doit être abandonnée, comme en défaut dans un assez grand nombre de cas.

Heinzerling confirme que les pyrénoides sont toujours inclus dans les chromatophores; mais le problème de l'origine et du rôle de ces organites n'est pas encore définitivement résolu.

Le même auteur s'est occupé spécialement de la question des corpuscules métachromatiques (Volutinkörner) dont il a constaté

¹⁾ Progressus rei botanicae, Bd. I.

²⁾ H. Pérageallo, Sur la division cellulaire du *Biddulphia mobiliensis*. Bull. Stat. biol. Arachon, Ann. 10. 1907.

³⁾ Mereschkowsky, Die Gesetze des Endochroms, Kasan 1906 (en Russe).

l'existence à peu près constante chez les Diatomées. Conformément à l'opinion ancienne de Lauterborn, ils paraissent localisés dans des vacuoles, occupées par le suc cellulaire. Leur nombre et leur situation ont parfois une fixité véritablement spécifique; ils représentent probablement une substance de réserve.

La polémique continue, au sujet du mécanisme du mouvement chez les Raphidées; la question étant avant tout d'ordre physiologique, nous ne croyons par devoir nous y arrêter ici. Rappelons seulement qu'une mobilité normale, entièrement autonome, a été constatée par Bergon dans deux Raphidées pélagiques, *Nitzschia seriata*, et *Navicula membranacea*, qui rentrent ainsi dans la règle commune.

Une adaptation morphologique curieuse consiste dans le commensalisme des Diatomées pélagiques avec divers Tintinnoides, Infusoires ciliés essentiellement pélagiques. L'association de *Tintinnus inquilinus* avec *Chaetoceros tetrastichon* est connue depuis longtemps.¹⁾ C. H. Ostensfeld²⁾ a signalé la localisation curieuse de colonies d'*Amphorella borealis* dans les fissures valvaires de *Palmeria Hardmaniana*; enfin on trouve souvent, dans la Méditerranée le *Tintinnus Fraknoi* véhiculant une ou plusieurs chaînes pluricellulaires de *Hemiaulus Hauckii*. Le mécanisme et le but de ces associations est inconnu.

Reproduction et évolution des Diatomées. — G. Karsten³⁾ a montré récemment, dans une synthèse magistrale, que ces deux questions sont désormais inséparables.

Les deux grandes séries systématiques des Diatomées, Centricae et Pennatae de Schütt, présentent en effet des différences profondes dans les divers processus reproducteurs et conservateurs. On est ainsi conduit à les considérer comme deux lignées phylogénétiques distinctes, issues d'une souche commune, mais ayant évolué parallèlement suivant leurs aptitudes spécifiques.

La formation des auxospores chez les Pennatae se rattache toujours à une sexualité actuelle ou plus ou moins totalement régressive. L'évolution sexuelle cytologiquement la plus caractéristique est celle des *Surirella*: deux cellules concourent à former une seule auxospore (copula), après une double mitose qui différencie dans chaque cellule un noyau sexuel et trois noyaux de réduction.

Les différents cas de régression, où les traces d'une sexualité actuelle semblent en voie de disparition plus ou moins avancée, sont diversement appréciés par les auteurs. Dans *Synedra affinis*, par exemple, G. Karsten et Oltmanns admettent une apogamie.

¹⁾ J. Pavillard, Recherches etc., l. c. Montpellier 1905.

²⁾ C. H. Ostensfeld, Flora of Koh Chang, Part VII. Marine Plankton Diatoms. Copenhagen 1902.

³⁾ G. Karsten, Das Indische Phytoplankton, l. c. 1907.

Lotsy en fait un cas de parthénogenèse. Hartmann¹⁾, impressionné surtout par la karyogamie constatée dans quelques auxospores, y voit l'indice d'une fécondation nucléaire intracellulaire, c'est à dire un fait d'autogamie caractéristique.

Rien de semblable ne s'observe chez les Centricae. Le mode de formation des auxospores, toujours identique à lui même, paraît entièrement indépendant de toute sexualité, actuelle ou ancestrale. Rien n'autorise à penser qu'il se soit produit à cette occasion „einen vollkommenen Verlust der Befruchtung“, comme le prétend Hartmann.

Un phénomène compensateur, en relation hypothétique avec une autre forme de sexualité, se manifeste chez les Centricae dans la formation des „microspores“.

Comme l'observe judicieusement G. Karsten, la question des microspores chez les Diatomées n'est réellement entrée dans le domaine scientifique qu'en 1902, avec le remarquable mémoire de H. H. Gran.²⁾ Mais c'est à P. Bergon³⁾ que nous devons les données les plus complètes et les seules véritablement décisives, parce que les observations faites sur matériaux fixés ont été rigoureusement contrôlées sur le vivant. L'auteur a pu y suivre toutes les phases morphologiques du phénomène, depuis la dernière division de la cellule-mère jusqu'à la déhiscence du „sporange“ mûr et la dissémination des zoospores biflagellées.

Dans sa membrane distendue, une cellule de *Biddulphia mobiliensis* divise son cytoplasme (et son noyau) en deux parties, individuellement délimitées, vers l'intérieur, par une mince membrane silicifiée: chaque cellule se transforme ainsi en un sporange double.

Des divisions cytoplasmiques et nucléaires répétées partagent le contenu de chaque sporange en 2, 4, 8, etc., fragments arrondis, mais dépourvus de membrane propre; le nombre définitif oscille autour de 32, tantôt plus, tantôt moins. Chaque petite masse cytoplasmique, renfermant un noyau et des chromatophores, devient une zoospore, arrondie ou ovale, munie de deux flagelles plus ou moins renflés à leur extrémité libre; le point d'insertion de ces flagelles est inconnu. Bergon a observé un phénomène assez inattendu: les masses cytoplasmiques sporogènes entrent en mouvement vers le stade 16, c'est à dire avant la différenciation des spores définitives; mais ce mouvement préliminaire, consistant en une rotation plus ou moins rapide

¹⁾ M. Hartmann, Autogamie bei Protisten. Jena 1909.

²⁾ H. H. Gran, Das Plankton des norwegischen Nordmeeres. Bergen 1902.

³⁾ P. Bergon, Biologie des Diatomées. Les processus de division, de rajeunissement de la cellule et de sporulation chez le *Biddulphia mobiliensis* Bailey. Bull. Soc. bot. France, T. LIV. 1907.

autour de l'axe de division, n'a rien de commun avec le mouvement d'oscillation saccadée, déterminé plus tard par les flagelles des zoospores.

L'évolution ultérieure des zoospores est entièrement inconnue.

Dans le matériel fixé de l'Expédition du Valdivia, G. Karsten¹⁾ a rencontré et figuré un certain nombre de stades qui semblent se rapporter à la sporogénèse d'une espèce nouvelle, le *Corethron Valdiviae*; les cellules produiraient par divisions successives 128 „microspores“ immobiles, parce que dépourvues d'organes locomoteurs. Karsten a édifié sur ses observations l'hypothèse d'un développement cyclique complet, débutant par la fusion sexuelle de deux microspores (gamètes) issues de deux cellules différentes. La copula (zygote) germerait ensuite en deux cellules filles bientôt revêtues d'une membrane caractéristique; le rétablissement de la taille normale ayant lieu, comme toujours, par la formation d'auxospores.

Appuyée sur des rapprochements ingénieux, la conception de Karsten offre des avantages évidents comme „Arbeitshypothese“, mais réclame impérieusement le contrôle, seul décisif, de l'observation immédiate et sans lacunes, faite directement sur le vivant.

Les progrès ainsi réalisés sur le terrain de la morphologie et du développement individuel des Diatomées, permettent de serrer de plus près le problème de leur évolution phylogénétique.

Il ne semble plus pouvoir être question d'affinités directes entre Dinoflagellés et Diatomées. Les premiers se rattachent probablement aux Flagellés primitifs (Cryptomonadines), tandis que la souche des Diatomées en est probablement très éloignée.

Les spéculations de G. Karsten²⁾ et de H. Péragallo³⁾, issues d'un point de départ très différent, aboutissent à la même conclusion.

Les Diatomées doivent être démembrées en deux lignées phylogénétiques parallèles, ayant leur expression systématique actuelle dans les deux grands divisions en Centricae et Pennatae.

Dans un effort de généralisation d'une extrême hardiesse, H. Péragallo croit pouvoir remonter jusqu'aux Amœbiens inférieurs: les Diatomées bilatérales (Pennatae) s'y rattacheraient par les Gymnoamibes et les Chromomonadinées, tandis que les Centricae dériveraient des Thécamébiens par l'intermédiaire des Radiolaires.

¹⁾ G. Karsten, Die sogenannten „Mikrosporen“ der Planktondiatomeen und ihre weitere Entwicklung, beobachtet an *Corethron Valdiviae* n. sp. Berichte d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXII. 1904.

²⁾ G. Karsten, Das Indische Phytoplankton, I. c.

³⁾ H. Péragallo, Sur l'Evolution des Diatomées. Bull. Stat. biol. Arcachon, Ann. 9. 1906.

Sans remonter ni si haut ni si loin, G. Karsten nous offre une solution bien plus conforme aux possibilités actuelles de la méthode phylogénétique: les affinités réelles des Diatomées, depuis longtemps pressenties par divers Algologues, se trouvent du côté des Conjuguées; et l'on peut aujourd'hui préciser: si les Centricae se rapprochent plus directement des Desmidiacées, les Pennatae ont des relations plus étroites avec les Mésoténiacées.

Institut de Botanique, 30 Juin 1910.

NEUE ERSCHEINUNGEN SEIT 1909.

Vorträge über botanische Stammesgeschichte. Gehalten an der Reichs-

universität zu Leiden.
Ein Lehrbuch der Pflanzensystematik. Von Dr. J. P. Lotsy.

I. Band: Algen und Pilze. Mit 430 Abbildgn. im Text. 1907. Preis: 20 Mark.

II. Band: Cormophyta zoidogamia. Mit 553 Abb. i. Text. 1909. Preis: 24 Mk.

Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen. Von Prof. Dr.

Hans Molisch, Direktor des pflanzenphysiologischen Institutes der K. K. deutschen
Universität in Prag. Mit 12 Figuren im Text. Preis: 1 Mark 20 Pf.

Die Eisenbakterien. Von Prof. Dr. Hans Molisch, Direktor des pflanzen-

physiologischen Instituts der k. k. Universität in Wien.
Mit 3 Chromotafeln und 12 Textfiguren. 1910. Preis: 5 Mark.

Hausschwammforschungen im amtlichen Auftrage herausgegeben von Prof. Dr. A. Möller, Oberforstmeister, Direktor der

Forstakademie und der mit ihr verbundenen Hauptstation des forstlichen Ver-
suchswesen zu Eberswalde.

Zweites Heft: Die Hausschwammfrage vom juristischen Standpunkte. Von Prof.
Dr. K. Dieckel. 1910. Preis: 3 Mark.

Drittes Heft: Die Lenzites-Fäule des Coniferenholzes, eine auf kultureller Grund-
lage bearbeitete Monographie der Coniferenholz bewohnenden Lenzites-Arten.
Von Dr. Richard Falck. Mit Zeichnungen von Olga Theomin. Mit 7 Tafeln
und 24 Abbildungen im Text. 1910. Preis: 12 Mark.

Illustrierte Flora von Nord- und Mitteldeutschland. Von Prof. Dr.

Potonić, Vorsteher der Paläobotanischen Abteilung der Kgl. Preuß. Landes-
anstalt. Fünfte vollständig umgearbeitete Auflage. In 2 Bänden
in Taschenformat (Text und Atlas). Mit rund 150 Einzelabbildungen im Text
und den Abbildungen von rund 1500 Arten und Varietäten im Atlas. 1910.

Preis für den Text: 3 Mark 50 Pf., geb. 4 Mark.

Preis für den Atlas: 2 Mark 50 Pf., geb. 3 Mark.

Potonićs bekannte „Illustrierte Flora“ ist in dieser Auflage inhalt-
lich vollständig umgearbeitet und mit durchaus neuen Abbildungen versehen. Um
die Benutzung für Exkursionen zu erleichtern ist sie auf besonders dünnem
(Baedeker-)Papier gedruckt und in 2 Bänden in bequemen Taschen-
format erschienen. Jeder Band ist einzeln käuflich.

Apotheker-Zeitung, Nr. 40 vom 18. Mai 1910:

... Potonićs Buch gehört zweifellos zu den sorgfältigst bearbeiteten und daher
zuverlässigsten Floren des Gebietes ...

Untersuchungen an Blattgelenken. Von Dr. Adolph Spertlich, Privat-

dozent der Botanik an der Universität
Innsbruck. Erste Reihe. Mit 7 Tafeln und 7 Abbildungen im Text. (Aus-
geführt mit Benutzung der von Prof. Heinricher von seiner Studienreise nach
Java mitgebrachten Materialien.) Herausgegeben teilweise mit Unterstützung
der kaiserlichen Akademie der Wissenschaft in Wien aus dem Legate Scholtz.
1910. Preis: 8 Mark.

Zur Biologie des Chlorophylls. Laubfarbe und Himmelslicht. Vergilbung

und Etiologie. Von Ernst Stahl, Prof.
an der Universität Jena. Mit 1 lithographischen Tafel und 4 Abbildungen im
im Text. 1909. Preis: 4 Mark.

Natur und Kultur, 1909, Heft 12:

Der Verfasser erörtert in höchst interessanter und geistreicher Weise die Fragen, warum
die Blätter grün und nicht anders gefärbt sind und ob ein Zusammenhang besteht zwischen
der Chlorophyllabsorption und den am Himmel vorherrschenden Farben.

Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Partheno-

genesis und Reduktionsteilung. Von Eduard Strasburger, o. ö. Prof.
an der Universität Bonn. (Histologische
Beiträge Heft VII.) Mit 3 lithographischen Tafeln. 1909. Preis: 6 Mark 50 Pf.

NEUE ERSCHINUNGEN SEIT 1909.

Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und in der Medizin. Von **N. Gaidukov.**

Mit 13 Abbildungen im Text, 3 Lichtdruck- und 2 chromolithographischen Tafeln.
1910. Preis: 8 Mark.

Inhalt: I. Einleitung. — II. Die Struktur der Kolloide. — III. Ultramikroskopische Untersuchungen von Sera und von Lösungen des Eiweißes und der Kohlehydrate. — IV. Untersuchungen des Blutes, der Tierzellen, der Spermien, der Augenmembranen usw. — V. Bakteriologische Untersuchungen. — VI. Eigene Untersuchungen botanischer Objekte. — VII. Über die Kolloide der Pflanzenzellen. — VIII. Untersuchungen der Spinnfasern. — IX. Zusammenfassung. — X. Ultramikroskopische Literatur.

Allgemeine Biologie. Von Prof. Dr. **Oscar Hertwig**, Geh. Rat, Direktor des anatom.-biologischen Instituts für Entwicklungsgeschichte in Berlin. Dritte umgearbeitete und erweiterte Auflage. Mit 435 teils farbigen Abbildungen im Text. 1909.

Preis: 16 Mark, in Halbfranz geb. 18 Mark 50 Pf.

Biophysikalisches Zentralblatt, Bd. I, Jahrgang, Nr. 9:

Mehrere Umstände vereinigen sich, um diesem Werke seine umfassende Bedeutung zu verleihen. Wenn ein Forscher, der durch Beobachtung und Experiment einen so bedeutenden Fortschritt in die Biologie gebracht hat, der außerdem die Biologie so großartig auffaßt und umfassend beherrscht, der noch dazu von der Klarheit seiner Darstellungswise schon vorher das glänzendste Zeugnis abgelegt hat, wenn ein solcher Forscher sich entschließt, eine „Allgemeine Biologie“ zu schreiben, so gibt das die beste Prognose für sein Unternehmen. Diese hat sich hier in vollem Umfange bestätigt.

Lehrbuch der Pharmakognosie. Von Dr. **George Karsten**, Prof. an der Universität Halle und **Friedrich Oltmanns**,

Prof. an der Universität Freiburg i. Br. Zweite vollständig umgearbeitete Auflage von G. Karsten: Lehrbuch der Pharmakognosie. Mit 512 großenteils mehrfarbigen Abbildungen im Text. 1909. Preis: 9 Mark, geb. 10 Mark.

Das System der Biologie in Forschung und Lehre. Eine historisch-kritische Studie. Von Dr. phil. **S. Tscholok**, Zürich. 1910. Preis: 9 Mark.

Inhaltsübersicht: I. Die Entwicklung der Anschauungen über Aufgabe und System der Botanik und Zoologie, vom 16. Jahrhundert bis 1869. 1. Die Botanik bis 1732. — 2. Die Botanik von 1732 bis 1813. — 3. Das System A. P. De Candolle (1813–1842). — 4. M. J. Schleiden. — 5. Die zoologischen Systeme bis 1866. — 6. E. Hückels System der Biologie (1866–69). — II. Versuch eines neuen System der biologischen Wissenschaft. 7. Verschiedene Arten die Biologie zu klassifizieren. — 8. Einteilung der Biologie nach der Forschungsmethode. — 9. Einteilung der Biologie in Biotaxie und Biophysik. — 10. Die sieben materiellen Gesichtspunkte der biologischen Forschung. — 11. Allgemeine und spezielle Botanik, resp. Zoologie. — 12. Zusammenfassung. Einwände. — 13. Kritik obiger Systeme der Biologie (aus der Zeit von 1853–1907). — III. Die Auffassung vom System der Biologie in den modernen Lehrbüchern. 14. Die modernen Lehrbücher der Botanik. — 15. Der Begriff der „Biologie im engeren Sinne“. — 16. Einige zoologische Lehrbücher. — Anmerkungen und Zusätze.

Vegetationsbilder. Herausgeg. von Dr. **G. Karsten**, Prof. a. d. Univ. Halle a. S., und Dr. **H. Schenck**, Prof. der techn. Hochschule Darmstadt.

Siebente Reihe. 8 Hefte. } Preis: für die ganze Reihe 20 Mark,

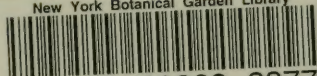
Achte Reihe. 8 Hefte. } für einzelne Hefte 4 Mark. Sammelmappen je 1 Mark.

Ausführliches Inhaltsverzeichnis aller Hefte der vorliegenden 8 Reihen kostenfrei.

Zeitschrift für Botanik herausgegeben von **Ludwig Jost**, Straßburg i. E., **Friedrich Oltmanns**, Freiburg i. Br., **Hermann Graf zu Solms-Laubach**, Straßburg i. E. Erster Jahrgang. 1909. 12 Hefte mit 4 Tafeln und 52 Textfiguren. Preis: 24 Mark, geb. 25 Mark 60 Pf.



New York Botanical Garden Library



3 5185 00288 3377

